



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**O BIOFILME NA PRÓTESE DENTÁRIA:
PATOGENESE E CONTROLO**

Trabalho submetido por
Carlota Úlrica Abrantes Mendes d'Orey Velasco
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Outubro de 2018



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

O BIOFILME NA PRÓTESE DENTÁRIA: PATOGENESE E CONTROLO

Trabalho submetido por

Carlota Úlrica Abrantes Mendes d'Orey Velasco

para a obtenção do grau de **Mestre** em Medicina Dentária

Trabalho orientado por

Prof. Doutora Helena Barroso

[Clique aqui para introduzir o Título e Nome do Coorientador..](#)

Outubro de 2018

Agradecimentos

À Prof. Doutora Maria Helena Barroso por todo o seu apoio e confiança na realização do meu projecto de tese,

A todos os docentes que atravessaram o meu percurso académico ao longo dos últimos 5 anos da minha vida, e, especialmente ao Departamento de Reabilitação Oral, onde fui tão bem-recebida pela Mestre e professora Joana Pereira,

Ao Dr. Pitt por me ter concedido o privilégio de assistir às suas consultas de Reabilitação Oral Assistencial,

À minha família, tios, tias, primas e primos, principalmente aos meus pais por serem o meu exemplo de educação e respeito, por darem o melhor aos seus filhos e ao meu irmão por estar presente em todos os momentos da minha vida desde que me lembro

Às minhas avós, avó Clarinda por rezar sempre pelo melhor dos seus netos e à avó Zeca, Ao meu avô, por me ter ensinado a ser sempre melhor, e que para ter é preciso merecer. O exemplo de união familiar que nunca esquecerei,

Ao meu namorado, por me apoiar todos os dias e por me ter aturado durante este longo percurso académico,

Às minhas amigas desde pequeninas, Marta Oliveira e Ariana Gomes por partilharem comigo os melhores momentos desde 2000,

À minha melhor amiga de sempre, Marta Pinto, minha parceira de box, por ser um exemplo de amizade, esforço e dedicação, durante toda a minha vida e, principalmente por me aturar todos os dias, nos bons e maus momentos, nos últimos dois na Clínica Universitária Egas Moniz,

Às minhas grandes amigas Margarida, Luisinha, Joana, Vera, Madalena e Paulinha, por me acompanharem há vários anos nesta longa caminhada da vida,

Às minhas grandes amigas da faculdade, VEGAS: Inês, Maria, Carlota, Guidinha, Leo e Jeca por todos os momentos partilhados nos últimos 5 anos,

Ao Diogo e à Inês, por serem um exemplo de fé e amizade e acompanharem o meu percurso académico desde o seu primeiro dia,

Ao Mestre António Delgado e melhor amigo de sempre por estar presente em todos os momentos da minha vida, ser um exemplo irrepreensível na área de investigação e por ter sido um suporte fundamental na realização deste projecto,

Ao Tó Lopo, ao Pedro Manso, ao Miguel Pedrosa, à Matilde Almiro, à Teresa Pinheiro de Melo, Leonor Marinho e à Velha Guarda pela Missão País nos ter tornado um grupo tão unido e divertido,

A todos os funcionários da recepção, farmácia, secretaria, tesouraria, bar, kiosk, cantina, biblioteca, manutenção, limpeza e seguranças por todos os seus bons-dias e boas-noites,

A Maria e a Deus, por serem o meu exemplo de bondade, por acompanharem e transformarem o caminho do meu dia-a-dia num caminho melhor,

Resumo

O microbioma oral é caracterizado por uma grande diversidade bacteriana, e as bactérias comensais e patogénicas do meio partilham um equilíbrio dinâmico a que chamamos simbiose. É importante conhecer tanto a microbiota como o microbioma oral a fim de podermos identificar os diferentes microrganismos que fazem parte da cavidade oral, bem como, as suas interações.

O biofilme é uma estrutura microbiana altamente especializada conhecida pela sua resistência a antimicrobianos. Na cavidade oral, bem como noutras localizações do nosso corpo, tem a capacidade de integrar agentes patogénicos que são capazes de alterar o equilíbrio do microbioma e instalar um estado de disbiose que pode desencadear doenças como a cárie, a doença periodontal, a estomatite protética, patologias respiratórias e cardiovasculares.

Com o desenvolvimento de novas estratégias de tratamento e melhoria dos cuidados de saúde, verifica-se um aumento da população idosa, e consequente procura de tratamentos dentários que resolvam a situação de edentulismo que se verifica com o avançar da idade.

A prótese removível continua a ser uma das propostas terapêuticas de eleição visto que, apresenta uma relação preço/qualidade acessível para a maioria da população.

No entanto, uma das suas desvantagens é a acumulação de microrganismos na sua base protética e consequente formação do biofilme. Com o objectivo de resolver esta situação têm sido desenvolvidas técnicas de controlo e eliminação do biofilme, através da utilização de soluções antimicrobianas e da introdução de nanopartículas com propriedades antimicrobianas nas resinas acrílicas, mas, sem interferir nas propriedades físicas e mecânicas da estrutura da prótese.

Palavras-chave: biofilme; biofilme oral; microbioma oral; microbiota oral; microbiologia; prótese; prótese removível; edentulismo; portador de prótese;

Abstract

The oral microbiome is characterized by a large bacterial variety where commensal and pathogenic bacteria of oral cavity share a dynamic balance called symbiosis. It is important to understand the microbiota and the oral microbiome in order to identify the different microorganisms that constitute the oral cavity as well as their interactions.

The term biofilm encompasses a highly specialized polymicrobial community characterized by its antibiotic resistance. In the oral cavity as well as in other parts of human body, the biofilm has the capacity to integrate pathogens, alter the microbiome's balance and install a state of dysbiosis state that could originate diseases such as dental caries, periodontal disease, denture stomatitis, respiratory and cardiovascular pathologies.

The continuous development of new treatment strategies in health care services causes an increase in elderly population and consequent pursuit of dental treatment that could solve the problem of edentulism caused by age progression.

Removable dentures, today, remain one of the preferable therapeutic choices for the most part of population due to its affordable cost/quality. This happens despite their known disadvantages, such as enabling accumulation of microorganisms on the denture base and biofilm formation. Techniques have been implemented in order to control and eliminate the biofilm. These include the application of antimicrobial solutions and also the introduction of nanoparticles in acrylic resins with antimicrobial properties but, without impairing the denture's physical and mechanical properties.

Key-words: biofilm; oral biofilm; oral microbiome; oral microbiota; microbiology; denture; removable denture; denture biofilm; edentulism; denture wearer

Índice

I.	Introdução	9
II.	Desenvolvimento	11
1.	Microbioma Oral	11
1.1.	Definição de microbioma	11
1.2.	Microbioma do indivíduo em saúde	11
1.2.1.	Factores que influenciam o estado de saúde do microbioma	14
1.3.	Microbioma do indivíduo em estado de doença	16
1.4.	Microbioma do indivíduo portador de prótese	17
1.4.1.	Factores que influenciam o microbioma dos portadores de prótese ...	20
2.	Biofilme	22
2.1.	Definição do biofilme	22
2.2.	Constituição do biofilme	23
2.3.	Fases de formação do biofilme	25
2.4.	Colonizadores primários e secundários	27
2.5.	A placa bacteriana como biofilme	29
2.6.	Factores que influenciam o biofilme	32
2.7.	Colonização dos biomateriais dentários	33
3.	Prótese	40
3.1.	Edentulismo	41
3.2.	Resinas acrílicas	44
3.3.	Prótese removível	49
3.4.	Biofilme na prótese	50
4.	Patogenia	56
4.1.	Cárie	57
4.2.	Pulpite	61

4.3.	Gengivite	61
4.4.	Periodontite	61
4.5.	<i>Candida albicans</i> – estomatite protética.....	63
4.6.	Pneumonia por aspiração	66
5.	Controlo do biofilme na prótese.....	67
5.1.	Controlo mecânico.....	69
5.2.	Controlo químico	69
5.3.	Introdução de nanopartículas	74
5.4.	Extractos de planta.....	78
5.5.	Alteração da superfície do PMMA	81
5.6.	Enzimas	82
5.7.	Introdução de polímeros no PMMA	82
5.8.	Adesivos da prótese	86
III.	Conclusão.....	89
IV.	Bibliografia	91

Índice de Figuras

Fig.1 - Bactérias da cavidade oral em estado de saúde.....	12
Fig.2 - Factores que influenciam a homeostase na cavidade oral.....	13
Fig.3 - Ecologia do microbioma oral.....	14
Fig. 4 - Factores que influenciam o estado de disbiose.....	16
Fig. 5 - Constituintes do biofilme.....	24
Fig. 6 - Fases de formação do biofilme.....	27
Fig. 7 - Colonizadores primários e secundários do biofilme.....	28
Fig. 8 - Bactérias predominantes nas diferentes localizações dentárias.....	30
Fig.9 - Ortopantomografia de doente com edentulismo total.....	41
Fig.10 - Classificação de polímeros usados para o fabrico de bases protéticas.....	46
Fig.11 - Prótese total em resina acrílica	49
Fig.12 - Prótese inferior acrílica pigmentada.....	49
Fig.13 - Presença de biofilme na prótese em resina acrílica.....	51
Fig.14 - Lesão cariosa a <i>olho-nu</i>	58
Fig.15 - Lesão cariosa (RX).....	58
Fig.16 - Gengivite na arcada superior.....	61
Fig.17 - Gengivite na arcada inferior.....	61
Fig.18 - Doença periodontal.....	62
Fig.19 - Periodontite (RX).....	62
Fig.20 - Classificação da estomatite protética segundo <i>Newton</i>	63
Fig.21 - Estomatite protética em portadores de prótese total ou parcial.....	66
Fig.22 - Controlo mecânico do biofilme na prótese.....	69
Fig.23 - Identificação de biofilme com corante.....	69

Lista de Siglas

AMP - péptidos antimicrobianos

DNA - ácido desoxirribonucleico

DPOC - doenças pulmonares obstrutivas crónicas

EUA - Estados Unidos da América

MMA - metilmetacrilato

OMD - Ordem dos Médicos Dentistas

OMS - Organização Mundial de Saúde

pH - especifica a basicidade ou acidez de uma solução aquosa

PMMA - polimetilmetacrilato

SPE - substância polimérica extracelular

I. Introdução

Com este trabalho pretendeu-se efectuar uma revisão bibliográfica sobre o estado de arte da formação do biofilme na cavidade oral e na prótese dentária.

Há muitos anos que o biofilme tem sido estudado e, por isso, reconhece-se que o seu potencial patogénico pode desencadear o aparecimento de doenças na cavidade oral tais como, a candidíase, a estomatite protética, a cárie, a periodontite, entre outras (Morse et al., 2018).

Torna-se essencial investigar a microbiota da cavidade oral associada ao aparecimento deste tipo de patologias a fim de compreender melhor o seu modo de acção e desenvolver estratégias que controlem a proliferação bacteriana (Kilian et al., 2016).

Nos últimos anos tem-se verificado um aumento da população idosa devido ao avanço dos tratamentos médicos que leva, consequentemente, a um aumento da esperança média de vida. Em 2015, fez-se uma previsão de que na União Europeia, em 2025, 53% da população terá uma idade igual ou superior a 65 anos (United Nations Population Fund (UNFPA) & and HelpAge International, 2012).

Desta forma, as patologias orais despertam cada vez mais interesse já que desencadeiam efeitos locais, mas, também sistémicos relacionados com a saúde geral. É de extrema importância prevenir as doenças orais e melhorar a qualidade de saúde oral (Donnell et al., 2015).

O microbioma oral é único e diversificado e, por isso, é necessário que se continuem a desenvolver investigações que ajudem a criar estratégias terapêuticas eficazes anti biofilme, pois já foi provado que os antimicrobianos tradicionais muitas vezes não conseguem eliminar os agentes patogénicos (Bowen, Burne, Wu, & Koo, 2017).

Para reduzir a virulência do biofilme seria importante manipular o ecossistema e favorecer o crescimento de bactérias comensais e diminuir o desenvolvimento de bactérias patogénicas (Bowen et al., 2017).

Será pertinente comparar o microbioma em doentes sem prótese e em doentes portadores de prótese visto que, as doenças associadas ao uso de prótese foram tendo cada vez mais interesse no decorrer do aumento da população idosa a nível mundial (Gupta, Felton, Jemt, & Koka, 2018).

A procura de tratamentos dentários para resolver a situação do edentulismo está a ser exacerbada visto que, a esperança média de vida da população tem vindo a aumentar ao longo dos últimos anos. Apesar do desenvolvimento dos tratamentos dentários para ausência de dentes ser cada vez mais eficiente, principalmente com o aparecimento de próteses implanto-suportadas, o tratamento convencional com próteses removíveis continua a ser uma escolha, visto que temos sempre de considerar as restrições fisiológicas, anatómicas e económico-financeiras dos pacientes (Gupta et al., 2018).

Ainda foi considerado importante desenvolver uma revisão sobre as várias técnicas de controlo do biofilme a fim de evitar a sua formação bem como promover a sua eliminação.

O avanço técnico dos biomateriais dentários é essencial para que possam desenvolver novos materiais com propriedades antimicrobianas e que sejam biocompatíveis na cavidade oral (Øilo & Bakken, 2015).

II. Desenvolvimento

1. Microbioma Oral

1.1. Definição de microbioma

O termo microbioma foi introduzido por *Joshua Lederberg* e significa “comunidade ecológica de microrganismos comensais, simbióticos e patogênicos que partilham o nosso corpo” e pode ser considerado como determinante de saúde e/ou doença (Lederberg & McCray, 2001).

1.2. Microbioma do indivíduo em saúde

O microbioma oral é constituído por diversas bactérias, fungos, protozoários, archae e vírus, podendo até chegar a mil diferentes espécies de microrganismos (Morse et al., 2018).

A cavidade oral alberga mais de 700 espécies de bactérias que colonizam as superfícies dos tecidos moles da mucosa oral e dos tecidos duros dos dentes. Por isso, o aparelho digestivo, do qual faz parte a boca, é considerado como a comunidade bacteriana mais diversificada do corpo humano (Kilian et al., 2016; Øilo & Bakken, 2015).

As bactérias encontradas na cavidade oral em saúde podem ser classificadas em Gram-positivo ou Gram-negativo. As bactérias também se podem dividir consoante o seu formato em cocos ou bacilos (Marsh, 2000).

Os cocos Gram-positivo mais encontrados são *Streptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Abiotrophia* e *Stomatococcus* e os bacilos gram-positivos costumam ser *Actinomyces*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Lactobacillus*, *Rothia*, *Propionibacterium*, *Pseudoramibacter* e *Corynebacterium* (Marsh, 2000).

Os cocos Gram-negativo mais encontrados são *Neisseria*, *Veillonella* e *Moraxella* e os bacilos Gram-negativo costumam ser *Fusobacterium*, *Haemophilus*, *Campylobacter*,

Eikenella, *Selenomonas*, *Treponema*, *Wolinella*, *Leptotrichia*, *Desulfovibrio*, *Capnocytophaga*, *Prevotella* e *Simoniella* (Marsh, 2000).

As bactérias *Porphyromonas* e *Actinobacillus* aumentam de número em estados de doença, mas podem ser encontradas em menor número em estados de saúde (Wade, 2012).

Os fungos predominantes são *Candida*, *Cladosporium*, *Aureobasidium*, *Saccharomycetales*, *Aspergillus*, *Fusarium*, and *Cryptococcus* (Wade, 2012).

A archae é constituída por *Methanobrevibacter oralis* e dois filótipos de *Methanobrevibacter*, *Methanobacterium curvum/congolense* e *Methanosarcina mazei* (Wade, 2012).

Bactérias	Gram-negativas	Gram-positivas
Cocos	<i>Moraxella</i> <i>Neisseria</i> <i>Veillonella</i>	<i>Peptostreptococcus</i> <i>Streptococcus</i> <i>Stomatococcus</i> <i>Abiotrophia</i>
Bacilos	<i>Capnocytophaga</i> <i>Campylobacter</i> <i>Fusobacterium</i> <i>Porphyromonas</i> <i>Selenomonas</i> <i>Desulfobacter</i> <i>Desulfovibrio</i> <i>Haemophilus</i> <i>Leptotrichia</i> <i>Prevotella</i> <i>Eikenella</i> <i>Treponema</i> <i>Simonsiella</i> <i>Wolinella</i>	<i>Actinomyces</i> <i>Bifidobacterium</i> <i>Corynebacterium</i> <i>Propionibacterium</i> <i>Pseudoramibacter</i> <i>Eubacterium</i> <i>Lactobacillus</i> <i>Rothia</i>

Fig. 1 Bactérias da cavidade oral em estado de saúde (Adaptado de Marsh, 2000)

O microbioma oral vai-se tornando cada vez mais complexo ao longo do desenvolvimento humano (Kilian et al., 2016).

A forma de nascimento de um indivíduo, que pode ser parto normal ou cesariana, define a exposição do mesmo a diferentes microrganismos. No caso do parto normal o indivíduo pode ser exposto aos *Lactobacillus* e a *Candida*. Estes microrganismos irão influenciar a diversidade do microbioma oral durante a infância (Kilian et al., 2016).

O modo como o recém-nascido é alimentado também influencia a diversidade bacteriana do microbioma. Os indivíduos que são alimentados com leite materno possuem uma maior taxa de *Lactobacillus* comparativamente aos que são alimentados com leite artificial (Kilian et al., 2016).

Durante os primeiros dias de vida do recém-nascido, a cavidade oral apresenta apenas células epiteliais que são bastante selectivas à colonização bacteriana. Os colonizadores primários ou pioneiros costumam ser *Streptococcus*, nomeadamente, *S.mitis*, *S.salivaris* e *S.oralis* (Marsh, 2000).

Nos primeiros meses, a diversidade do meio oral aumenta e aparecem as bactérias anaeróbias Gram-negativo, sendo que a mais frequente costuma ser a *Prevotella melaninogenica* (Marsh, 2000).

A erupção dos dentes constitui um evento de extrema importância porque fornece à cavidade oral superfícies para a colonização bacteriana, bem como a substituição dos dentes da dentição decídua para a dentição definitiva e favorece o aparecimento de *Streptococcus mutans* e *S.sanguis* (Kilian et al., 2016).

As bactérias do nosso organismo são fundamentais para o nosso estado de saúde e, existem na cavidade oral numa condição de simbiose (equilíbrio) entre o hospedeiro e o microbioma. Esta condição traz várias vantagens tais como: a manutenção de um aparelho digestivo saudável, propriedades anti-inflamatórias, actividades antioxidantes, a regulação do sistema cardiovascular, a resistência à colonização por agentes patogénicos, suporte dos mecanismos de defesa do hospedeiro e fornece potenciais metabólicos adicionais (Kilian et al., 2016).

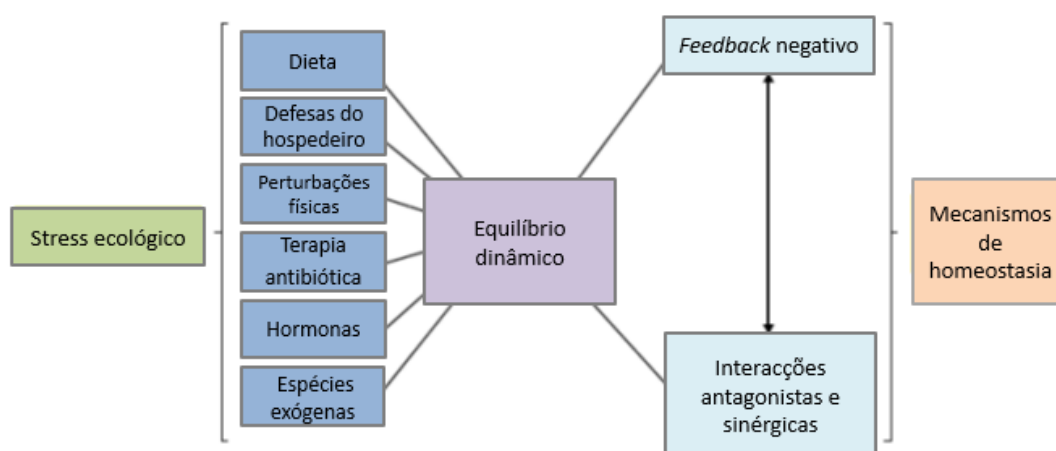


Fig. 2 Factores que influenciam a homeostase na cavidade oral (Adaptado de Marsh et al., 2009)

A cavidade oral é maioritariamente colonizada por bactérias comensais, que são habitantes naturais inócuos que não são capazes de provocar doença, no entanto, algumas bactérias são patogénicas, ou seja, são capazes de desenvolver doenças como a cárie, a doença periodontal e infeções fúngicas (Øilo & Bakken, 2015).

Desta forma, a boca pode ser considerada um meio de ligação entre a saúde geral e a saúde oral porque é um ecossistema muito heterogéneo com comunidades bacterianas que se podem organizar em diferentes habitats, tais como, a língua, a mucosa jugal, os dentes, os lábios, o palato mole, o palato duro, a gengiva aderida e o sulco gengival (Xu et al., 2015).

1.2.1. Factores que influenciam o estado de saúde do microbioma

O microbioma oral tem grande importância na saúde oral bem como na saúde geral, pois qualquer alteração que interfira na homeostase da cavidade oral pode ter repercussões na saúde do indivíduo (Kilian et al., 2016).

O equilíbrio entre o hospedeiro e o seu microbioma é um estado dinâmico que pode ser alterado por diversas condições que influenciam o estado de saúde do hospedeiro (Olms, Yahiaoui-doktor, Remmerbach, & Stingu, 2018).

O microbioma oral está dependente de vários factores que influenciam a sua constituição. Estes podem ser a higiene oral, a dieta, a idade, a medicação, o consumo de álcool, tabaco e drogas, o stress e as condições imunes e sistémicas do hospedeiro (Bowen et al., 2017; Olms et al., 2018).

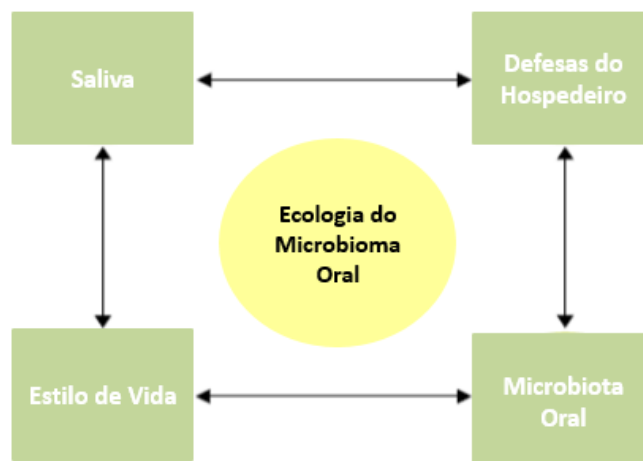


Fig.3 Ecologia do microbioma oral (Adaptado de Marsh et al., 2009)

Desta forma, é necessário que os profissionais de saúde estejam atentos aos factores que interferem com o equilíbrio do ecossistema oral e ajudem os indivíduos a alterar os seus hábitos, sejam eles de higiene, de dieta ou o consumo de álcool, tabaco ou drogas (Shi, Wu, Mclean, Edlund, & Young, 2016).

Com a revolução industrial deu-se uma mudança nos hábitos alimentares, tais como, a ingestão de hidratos de carbono fermentados, o consumo excessivo de açúcar e o consumo de bebidas gaseificadas, nos hábitos sociais como o consumo de tabaco e o álcool. Estas mudanças são capazes de alterar o equilíbrio do ecossistema oral podem levar ao aparecimento de doenças como a cárie e a doença periodontal (Donnell et al., 2015; Kilian et al., 2016).

Apesar da boca estar constantemente sujeita a microrganismos patogénicos oportunistas ela apresenta uma barreira essencial, o sistema imune, que previne o aparecimento de doenças e mantém o microbioma oral saudável (Donnell et al., 2015).

O sistema imune da cavidade oral está directamente relacionado com a constituição da saliva e do fluido crevicular que apresentam capacidades pro e anti-inflamatórias e também antimicrobianas (Devine, Marsh, & Meade, 2015).

A saliva tem um papel muito importante na cavidade oral. É essencial na mastigação, na digestão, bem como, na fala e contém péptidos antimicrobianos (AMP) que protegem as superfícies da cavidade oral dos agentes patogénicos e dos ataques ácidos através da presença de lípidos, proteínas, enzimas e hidratos de carbono com propriedades antimicrobianas e reguladoras que interferem na fixação dos microrganismos (Donnell et al., 2015; Kilian et al., 2016).

O papel da saliva é também fundamental nos microrganismos orais porque estes utilizam os seus nutrientes e enzimas para se poderem desenvolver e manterem o equilíbrio dinâmico do microbioma oral (van 't Hof, Veerman, Nieuw Amerongen, & Ligtenberg, 2014).

Existem outros constituintes da boca que se podem relacionar directamente com funções do organismo, um bom exemplo pode ser o nitrito que é convertido a partir dos nitratos da dieta. Este funciona como um potente vasodilatador com propriedades antimicrobianas. A redução da pressão arterial, a inibição da função das plaquetas bem como, a redução da disfunção endotelial pode dar-se quando há uma pequena ingestão de nitratos. Também actua no sistema gastrointestinal estimulando a produção de suco

gástrico e em casos de hipercolesterémia melhora a vascularização (Marsh, Head, & Devine, 2015).

1.3. Microbioma do indivíduo em estado de doença

O equilíbrio dinâmico do microbioma oral e do seu hospedeiro pode ser interrompido e passar de um estado de simbiose para um estado de disbiose associado a doença. Está claro que ao longo do desenvolvimento, o ser humano está susceptível a várias mudanças tais como, a puberdade, a gravidez, a idade. No entanto, a este tipo de variações o microbioma é capaz de se adaptar sem atingir um estado de disbiose (Marsh et al., 2015).

Quando o equilíbrio do ecossistema oral está comprometido as bactérias patogênicas crescem em grandes quantidades formando ambientes disbióticos em vários habitats da cavidade oral e são capazes de causar doenças como a cárie, gengivite e periodontite (Kilian et al., 2016).

A microbiota do nosso organismo é capaz de se aderir a superfícies, nomeadamente, as superfícies dentárias, e com a presença da saliva permite a formação da película dentária (Shi et al., 2016).

A película dentária desencadeia a formação da placa bacteriana e forma biofilmes, que são comunidades bacterianas organizadas em estruturas funcionais altamente especializadas (Bowen et al., 2017).

Desde que a placa bacteriana seja removida é possível manter um estado de simbiose e os agentes patogênicos orais podem existir em menores quantidades sem alterar o equilíbrio da microbiota oral (Marsh et al., 2015).

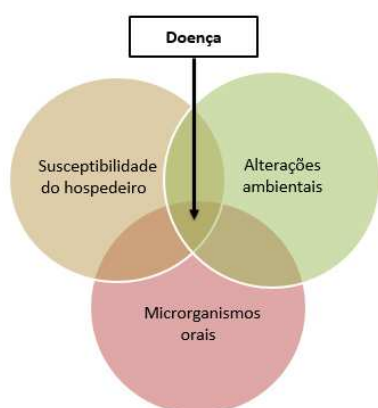


Fig.4 Factores que influenciam o estado de disbiose
(Adaptado de Marsh et al., 2009)

Mas quando não há um controlo adequado da carga microbiana oral esta tem a capacidade de disseminar para outras localizações do corpo e causar doenças (Kilian et al., 2016).

Posto isto, é essencial que exista um controlo do biofilme através da remoção da placa bacteriana. Assim é possível diminuir a carga bacteriana presente na cavidade oral e prevenir a sua disseminação para outras partes do organismo (Kilian et al., 2016).

Assim, é possível compreender a importância do microbioma oral para a manutenção da microbiota a níveis compatíveis com um bom estado de saúde oral (Kilian et al., 2016).

Torna-se essencial que o microbioma se encontre em simbiose, tendo em conta que influencia a saúde oral bem como, a saúde geral (Kilian et al., 2016).

1.4. Microbioma do indivíduo portador de prótese

O microbioma dos indivíduos portadores de prótese é alterado pela presença da prótese na cavidade oral (Olms et al., 2018)

A composição da placa da prótese tem mostrado cada vez mais interesse clínico e, por isso, são necessárias mais investigações sobre este tema. (Olms et al., 2018)

Campos e colaboradores, em 2008, isolaram 82 bactérias que apenas correspondiam a 50% da flora bacteriana encontrada (Campos, Marchini, Bernardes, Paulino, & Nobrega, 2008).

A placa bacteriana associada à prótese é constituída por comunidades microbianas complexas embebidas numa matriz polimérica que pode conter mais de 10^{11} microrganismos por miligrama de placa e mais de 600 espécies procariotas (Neppelenbroek, 2015).

Independentemente do tipo de prótese utilizada estudos mostraram que a quantidade de *Staphylococci*, *Streptococci*, fungos e *Lactobacilli* aumenta nos portadores de prótese bem como, algumas bactérias menos comuns, espiroquetas de *Enterobacteriae* e anaeróbios pigmentados de preto (Teles et al., 2012).

Geralmente, a placa da prótese é constituída por Staphylococci (*S. aureus*, *S. epidermidis*), Streptococci (*S. sanguis*, *S. oralis*, *S. anginosus*, *S. salivarius*), bacilos Gram-positivos (*Actinomyces*. [*A. israelii*, *A. naeslundii*, *A. odontolyticus*], *Lactobacilli*, *Propionibacterium* spp.), *Veillonella* (*Veillonella parvula*), e menores quantidades de bacilos Gram-negativos que podem ser *Capnocytophaga gingivalis*, *Eikenella corrodens* e *Neisseria mucosae* (Duyck, Vandamme, Muller, & Teughels, 2013; Sachdeo, Haffajee, & Socransky, 2008; Teles et al., 2012)

Também estão presentes grandes quantidades de fungos como *Candida* spp. (*Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*) (Coulthwaite & Verran, 2007; Donnell et al., 2015; Duyck et al., 2013).

As grandes quantidades de *Candida* spp na prótese estão directamente relacionadas com a presença de *Lactobacillus* spp na prótese, ao contrário do que acontece com *Fusobacteria* (Donnell et al., 2015).

A placa da prótese apresenta uma maior quantidade de *Candida albicans* mas costuma ser semelhante à placa bacteriana e, por essa razão, os estudos mostraram que a placa da prótese é constituída predominantemente por *Streptococci* e *Staphylococci* (Donnell et al., 2015; Neppelenbroek, 2015).

A ausência de *Streptococcus mutans* na composição predominante da placa da prótese é de grande relevância, pois esta espécie bacteriana está presente na placa bacteriana e é associada ao aparecimento da cárie dentária (Coulthwaite & Verran, 2007).

Por outro lado, a colonização por *S.mutans* está associado à presença de superfícies duras, o que não acontece na ausência total de dentes, mas, no caso de o indivíduo ser portador de prótese, estas superfícies duras voltam a existir e este tipo de bactérias consegue colonizar as superfícies protéticas (Sachdeo et al., 2008).

Quando se comparam próteses com reparação e próteses sem reparação, *Streptococcus* e *Actinomyces* são frequentemente encontrados na prótese sem reparação e invadem a resina acrílica à medida que está se vai deteriorando. Já *Lactobacillus* encontram-se nas próteses reparadas mostrando que estes são capazes de penetrar entre a resina acrílica e a resina autopolimerizada utilizada na reparação, onde a nutrição deve ser mais selectiva para estas espécies (Koch, Burgers, & Hahnel, 2013).

O estudo de Lindsey E. O'Donnell e colaboradores, em 2015, concluiu que a placa bacteriana, a placa presente na prótese e a placa da mucosa oral onde assenta a prótese

têm uma diversidade e composição bacteriana muito distintas e, por isso, o microbioma oral dos portadores de prótese é variável e influenciado pela localização na cavidade oral (Donnell et al., 2015).

As diferentes localizações, as diferentes superfícies, e o diferente ambiente da placa bacteriana pode influenciar o crescimento de certo tipo de microrganismos (Øilo & Bakken, 2015).

A placa bacteriana demonstrou ter maior diversidade que a placa da prótese e da mucosa oral onde assenta a prótese (Donnell et al., 2015).

As espécies *Bacilli* e *Actinobacterias* foram predominantes na prótese e na mucosa, no entanto, só representam apenas 30% da placa bacteriana (Donnell et al., 2015).

A microbiota bacteriana de portadores de prótese foi mais variada na placa bacteriana do que na superfície da prótese e da mucosa do palato e as espécies predominantes foram *Actinobacteria* e *Bacilli*, o que já era de esperar, tendo em conta que os colonizadores primários são *Streptococcus* e *Actinomyces* (Campos et al., 2008).

Ainda neste estudo, a placa bacteriana mostrou ter maiores quantidades de *Selenomonas*, *Campylobacter*, *Prevotella*, *Fusobacterium* e *Corynebacterium* e, baixas quantidades de *Rothia* e *Streptococcus*, a placa da prótese mostrou ter maiores quantidades de *Atopobium*, *Scardovia*, *Lactobacillus* e *Actinomyces*, e, baixas quantidades de *Haemophilus*, *Streptococcus* e *Rothia* e o microbiota da mucosa mostrou ter maior quantidades de *Actinomyces*, *Prevotella*, *Haemophilus* e *Neisseria* e, baixas quantidades de *Streptococcus*, *Lactobacillus* e *Jathinobacterium* (Donnell et al., 2015).

Em relação ao tipo de prótese usado, as próteses parciais mostraram ter maior diversidade bacteriana que as próteses totais independentemente de a superfície ser a mucosa ou a prótese, assemelhando-se, deste modo, à placa bacteriana. Os doentes dentados mostraram ter um microbioma mais diversificado que os doentes edêntulos seja, na superfície da mucosa ou na superfície da prótese. As próteses parciais/doentes dentados mostraram ter maiores quantidades de *Actinomyces*, *Haemophilus*, *Corynebacterium* e *Veillonella* e baixas quantidades de *Streptococcus* e *Lactobacillus* relativamente às próteses totais/doentes edêntulos (Donnell et al., 2015).

Ainda sobre o tipo de prótese utilizado, a presença de colónias de *C. albicans* foi superior em doentes edêntulos/prótese total que os dentados/prótese parcial. Esta situação

ocorre porque a microbiota dos doentes edêntulos tem uma menor variedade bacteriana, uma menor quantidade e, dá espaço para que microrganismos como *C. albicans* se possam desenvolver (Donnell et al., 2015).

Se o doente apresentar patologia associada à prótese, como é o caso da estomatite protética, a placa da prótese apresenta maiores quantidades de *Bacteroidia*, nomeadamente, espécies como *Veilonella* e *Prevotella*. Já a mucosa destes doentes mostrou ser mais diversificada do que a dos doentes saudáveis e apresentou maiores quantidades de *Actinobacteria* e *Bacteroidia* (Donnell et al., 2015).

1.4.1. Factores que influenciam o microbioma dos portadores de prótese

O microbioma presente na prótese não é consistente e varia consoante o sítio da recolha que pode ser, da mucosa do palato onde assenta a prótese, da superfície interna da prótese ou dos dentes naturais ainda presentes na cavidade oral (Donnell et al., 2015).

Existe uma vasta variedade de bactérias e factores capazes de alterar o microbioma dos portadores de prótese tornando-os únicos em cada pessoa (Donnell et al., 2015).

É certo que a localização do biofilme influencia o microbioma da cavidade oral. A superfície da mucosa é biótica, ou seja, permite a interacção dos microorganismos e do meio oral. Dessa forma, os dentes e gengivas são passíveis de ser colonizados pelas bactérias que estão expostas a receptores capazes de reconhecer agentes patogénicos ou a péptidos das células epiteliais que são responsáveis pela defesa do hospedeiro (Kilian et al., 2016).

Por outro lado, a superfície da prótese é abiótica porque influencia a estrutura e funcionamento dos microrganismos do meio oral e, desta forma, faz com que os biofilmes desta superfície estejam expostos a menos defesas do hospedeiro e permite que as bactérias se desenvolvam e constituam a placa bacteriana associada a prótese (Donnell et al., 2015; Olms et al., 2018).

Outro factor que influencia o microbioma do portador de prótese é a idade. É de conhecimento comum que a resposta imune do hospedeiro diminui com a idade e que a perda de dentes também prejudica esta resposta (Donnell et al., 2015).

A presença de dentes naturais tem uma grande influência na composição e diversidade do microbioma oral dos portadores de prótese (Donnell et al., 2015).

Um estudo referiu que o biofilme formado nos dentes naturais apresentava maior variedade de espécies e que se desenvolveu mais rapidamente que o biofilme que se forma na superfície interna da prótese (Teles et al., 2012).

Além da dentição natural, a contagem de colónias de *Candida* e de péptidos antimicrobianos (AMP) influenciam a composição do microbioma do portador de prótese, bem como, o tipo de prótese utilizada (Donnell et al., 2015; Øilo & Bakken, 2015).

Vários estudos comprovaram que a concentração de péptidos antimicrobianos na saliva diminui à medida que se vão perdendo dentes naturais e o facto de a população idosa utilizar fármacos que levam a casos de xerostomia, mais conhecida como boca seca, pode também influenciar estes valores e permitir a formação de biofilme patogénico associado à prótese (Olms et al., 2018).

A presença de prótese actua como barreira e não permite que a saliva seja uma fonte de nutrientes para as bactérias e limita, desta forma, a formação de nichos bacterianos. Por outro lado, induz um ambiente anaeróbico em zonas de estagnação salivar na superfície basal da prótese (Olms et al., 2018).

Desta forma, a presença de AMP's na saliva tem uma grande influência no microbioma da mucosa. A presença de AMP's na saliva está relacionada com o facto de estes poderem evitar o desenvolvimento de placa na prótese (Donnell et al., 2015).

As bactérias e outros microrganismos presentes na prótese, no caso de não serem comensais, apresentam uma resposta imune limitada bem como uma colonização também limitada (Susewind, Lang, & Hahnel, 2015a)

Existem ainda outros factores como a má higiene oral e a falta de adaptação que influenciam a adesão de microrganismos e formação de biofilme patogénico na superfície interna da prótese (Olms et al., 2018).

Tendo em conta que as interacções entre as bactérias e o microbioma oral são influenciadas por diversos factores que tornam o microbioma de cada indivíduo único é possível admitir na presença de prótese tudo se torne mais complexo e difícil de compreender (Donnell et al., 2015).

2. Biofilme

2.1. Definição do biofilme

No início do século XX, vários cientistas chegaram à conclusão que a maioria das bactérias se encontravam aderidas a superfícies. Por volta de 1970, o pai da microbiologia moderna, *Robert Koch* descreveu bactérias como sendo microrganismos individuais de flutuação livre. Mais tarde, *Costerton* introduziu formalmente o termo biofilme em 1978 (Costerton, Geesey, & Cheng, 1978; Technique, 1932).

A maior parte do biofilme são bactérias, o valor aproximado é de 80%. As bactérias têm a capacidade de ser agregar e podem existir na forma de plâncton, mas também na forma de biofilme. No entanto, o biofilme é considerado a forma predominante porque é mais resistente às mudanças do meio ambiente (Bowen et al., 2017; Le, Adams, Yu, Sykes, & Wang, 2015).

Os biofilmes são considerados uma estrutura altamente especializada de comunidades microbianas embebidas numa matriz extracelular e podem ser também definidos como, comunidades de microrganismos aderidos a uma superfície (Bowen et al., 2017; Le et al., 2015).

Este tipo de agregação microbiana, a que se deu o nome de biofilme, está relacionada com mecanismos de resistência a fármacos, dificuldade em eliminar bactérias e tem um papel importante na ocorrência de infecções bacterianas (Le et al., 2015).

Ao longo do tempo, entendeu-se que os agentes patogénicos desenvolveram mecanismos que aumentavam o potencial de virulência do biofilme e que as interações polimicrobianas e o meio ambiente do biofilme têm um papel importante nos estados de saúde e doença (Bowen et al., 2017).

A criação de nichos com diferentes potenciais patogénicos é possível através da organização das células em ecossistemas multicelulares coesivos onde ocorrem interações antagonistas e de cooperação dentro de um ambiente físico-químico heterogéneo (Flemming et al., 2016).

2.2. Constituição do biofilme

O biofilme pode desenvolver-se em superfícies bióticas ou abióticas e formar comunidades polimicrobiais de microrganismos conhecidas pela sua resistência ao sistema imune do hospedeiro e tolerância aos antimicrobianos. O crescimento destes microrganismos é sustentado por uma matriz EPS através de uma série de processos (Donnell et al., 2015).

A estrutura do biofilme é suportada por uma matriz de substâncias poliméricas extracelulares constituídas por exopolissacáridos (glucanos derivados de *Streptococcus mutans*), glucanos insolúveis, frutanos, proteínas do hospedeiro, glicoproteínas e ácidos nucleicos (DNA extracelular) (Bowen et al., 2017).

A matriz polimérica extracelular é de extrema importância na estabilização do biofilme porque é capaz de mediar a adesão célula-célula e também a adesão bactéria-superfície. Os canais presentes na matriz permitem que os nutrientes, a água e o ar possam chegar a toda a estrutura do biofilme. Hoje reconhecemos que as suas propriedades bioquímicas e estruturais proporcionam condições favoráveis ao biofilme, tais como, interacções sinérgicas e competitivas, adesão à superfície, tolerância aos antimicrobianos, o seu papel na virulência, bem como, o seu comportamento bacteriano colectivo (Bowen et al., 2017; Le et al., 2015).

A matriz de substâncias poliméricas extracelulares tem a capacidade de limitar a difusão dos agentes antimicrobianos e proteger as células bacterianas do biofilme. A SPE é capaz de reduzir a eficácia dos fármacos pois consegue ligar-se a antimicrobianos catiónicos (ex. clorohexidina) e prevenir a sua penetração nas camadas profundas do biofilme (Donnell et al., 2015).

Os exopolissacáridos são polímeros compostos de resíduos de açúcar de grande peso molecular, sintetizados intra ou extracelularmente e secretados pela bactéria para o exterior do meio envolvente. Estes servem como suporte para a aderência de lípidos, hidratos de carbono, ácidos nucleicos e proteínas. Os hidratos de carbono mais comuns são a glicose, a manose e a galactose (Le et al., 2015).

Os glucanos da matriz permitem a acumulação microbiana nos dentes, aumentam a coesão célula-célula à medida que aparecem novas interações entre diferentes espécies (Bowen et al., 2017).

Tendo em conta que o *Streptococcus mutans* é o principal microrganismo oral produtor de glucanos insolúveis, capaz de criar microambientes para outras bactérias cariogênicas-ácidúricas e consistente com vários níveis de bactérias na placa, reconhece-se o seu papel fundamental na formação da matriz do biofilme (Bowen et al., 2017)

As proteínas extracelulares são essenciais na formação e na estabilização do biofilme porque aderem à superfície das células e dos polissacáridos. Em situações de insuficiência nutricional, existem enzimas que são capazes de fornecer carbono e energia necessários para as células do biofilme através da quebra de ligações dos polímeros, (Le et al., 2015).

O DNA extracelular provém das células lisadas ou é activamente secretado. Tem um papel importante na adesão porque é capaz de interagir com os receptores da superfície dentária quando a distância entre as células bacterianas e a superfície é apenas de alguns nanómetros. O DNA extracelular é também capaz de quelar catiões metálicos e alguns antibióticos com carga positiva devido à sua carga negativa (Le et al., 2015).

As bactérias secretam polissacáridos, ácidos nucleicos e proteínas para a matriz extracelular que é responsável por manter a estrutura do biofilme e protege os microrganismos dos ataques químicos a que são sujeitos pelo meio externo (Øilo & Bakken, 2015).

Desta forma, a matriz organiza as bactérias em aglomerados microbiais enquanto a SPE permite interações entre diferentes espécies e processos de adesão-coesão entre bactérias e, por conseguinte, a função celular a um nível uni e multicelular permite uma reciprocidade dinâmica entre as células e a matriz que proporcionam uma rede molecular interligada (Bowen et al., 2017).

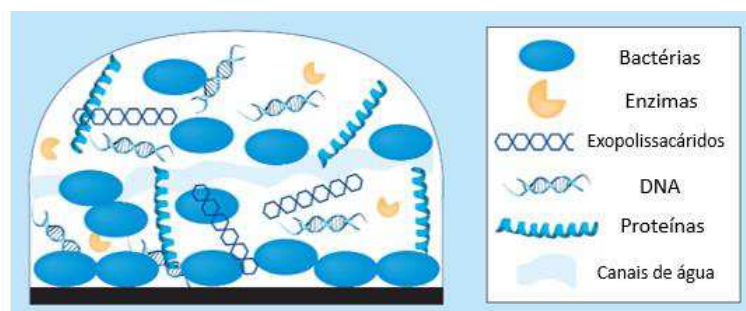


Fig.5 Constituintes do biofilme (Adaptado de Le et al., 2015)

2.3. Fases de formação do biofilme

Após a prática da higiene oral, as diferentes superfícies da boca são cobertas por glicoproteínas provenientes da saliva, formam a película adquirida que é uma camada amorfa e acelular com menos de 1µm de espessura. Esta película permite que os microrganismos se adiram, colonizem as superfícies, formem uma comunidade, comuniquem através de moléculas sinalizadoras, emitam respostas como se fossem uma só unidade e formem o biofilme (Øilo & Bakken, 2015).

Após a escovagem, as superfícies da cavidade oral são banhadas pela saliva, as suas proteínas formam uma película composta por bactérias que, por sua vez, formam uma comunidade e são capazes de comunicar entre si por moléculas sinalizadoras e emitir respostas como se fossem uma só unidade. (Øilo & Bakken, 2015).

Para a formação do biofilme é necessário que as bactérias adiram a uma superfície. As cargas negativas da bactéria são repelidas pelas cargas negativas da superfície, mas, quando a distância entre os dois substratos é de 10 a 20 nanómetros, estas podem converter-se em forças de atracção *van der Waals* ou pontes de hidrogénio e aderir à película já formada com auxílio de flagelos e fímbrias (Jamal et al., 2018; Le et al., 2015).

A formação do biofilme pode ser descrita em três diferentes fases, a adesão, a maturação e a dispersão (Le et al., 2015).

A fase de adesão compreende uma fase reversível e uma irreversível. A adesão às proteínas da matriz (fibronectina, fibrogénio, vitronectina) é o primeiro passo da formação do biofilme dos agentes patogénicos *Streptococcus aureus* e *Streptococcus epidermidis*. Os componentes microbianos da superfície ligam-se covalentemente ao peptoglicano da parede da célula através do reconhecimento das moléculas adesivas da matriz. Também existem ligações não covalentes mediadas por auto-lisinas. Os flagelos são essenciais na adesão inicial porque são capazes de promover a adesão e agregação de células e formar microcolónias (Jamal et al., 2018; Le et al., 2015).

A fase irreversível da adesão dá-se aquando da formação da matriz polimérica extracelular e é capaz de tolerar grandes forças de ruptura sejam elas, físicas ou químicas (Bowen et al., 2017).

A fase de maturação faz com que várias espécies de células sejam captadas para o biofilme a partir de uma massa fluida desde o momento em que se forma a primeira fina camada de biofilme. O biofilme entra num processo de crescimento e adquire uma estrutura em forma de cogumelo ou torre. À medida que se dá a maturação do biofilme as bactérias vão tendo funções cada vez mais especializadas e são capazes de secretar DNA, proteínas e polissacáridos (Jamal et al., 2018; Le et al., 2015).

Nesta fase, ocorrem fenómenos de co-adesão e co-agregação entre as bactérias. A co-agregação é um mecanismo essencial na organização funcional das comunidades microbianas e permite a interacção célula-célula por outro lado, a co-adesão integra o reconhecimento celular de diferentes tipos de bactérias e tem um papel fundamental na sucessão bacteriana e na formação do biofilme (Le et al., 2015; Marsh, Martin, Lewis & Williams 2009).

Estas interacções bacterianas desencadeiam a libertação de moléculas sinalizadoras, a que chamamos auto-indutores, que são responsáveis pelo “*quorum sensing*” entre bactérias. Desta forma, as microcolónias microbianas comunicam entre si através da EPS, transportam os nutrientes necessários e removem os resíduos (Jamal et al., 2018).

Quando o biofilme se torna mais espesso as bactérias agrupam-se de acordo com o seu metabolismo e tolerância aeróbica. Por exemplo, no caso de bactérias anaeróbias estas preferem as camadas mais profundas do biofilme para evitar a sua exposição ao oxigénio (Le et al., 2015).

A fase de dispersão pode ocorrer numa parte ou em todo o biofilme, é considerada uma fase crítica para o ciclo de vida do biofilme já que ocorre devido a uma multiplicidade de factores tais como, a competição intensa, a falta de nutrientes, bem como a população bacteriana presente, leva à ruptura das uniões adesivas de co-adesão co-agregação das bactérias e os microrganismos podem colonizar outras localizações (Jamal et al., 2018; Le et al., 2015).

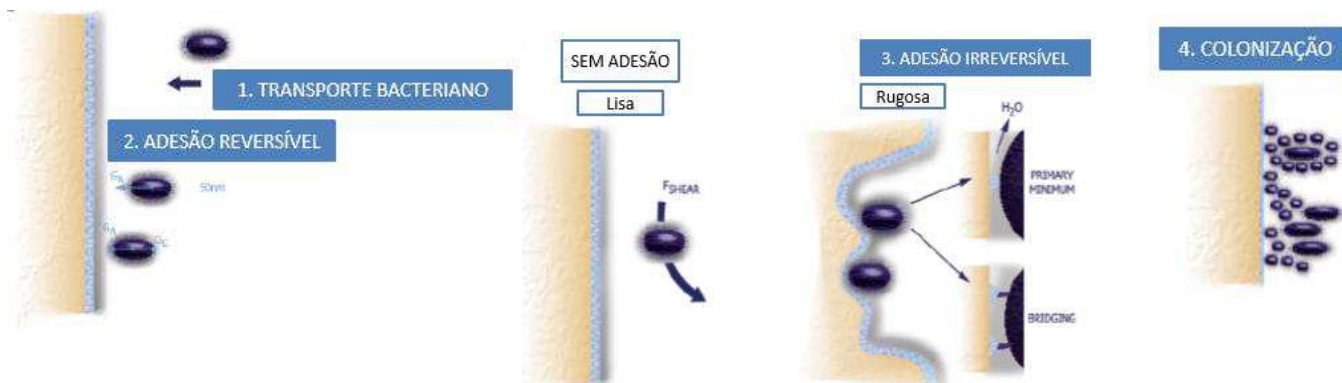


Fig.6 Fases de formação do biofilme (Adaptado de Teughels, Assche, Sliepen, & Quirynen, 2006)

2.4. Colonizadores primários e secundários

Os microrganismos *Streptococcus* e *Actinomyces* são considerados os colonizadores primários do biofilme da cavidade oral. Os *Streptococcus* representam 60 a 90% dos colonizadores primários. Estes são capazes de se aderirem a superfícies, de se aderirem entre si, e reconhecerem os receptores presentes na película adquirida que cobre o esmalte, interagirem com eles e desenvolverem a placa dentária (Le et al., 2015; Mancl, Kirsner, & Ajdic, 2013; Marsh, 2000).

As bactérias *Streptococcus* consideradas colonizadores primários são *Streptococcus mitis* (24-42%), *Streptococcus oralis* (1-27%) e *Streptococcus sanguinis* (6-18%) (Kolenbrander, Palmer, Periasamy, & Jakubovics, 2010; Wang, Shen, & Haapasalo, 2014).

A percentagem de 90% corresponde à agregação de *Streptococcus* e *Actinomyces* que pode ser inibida pela galactose e pela lactose (Mancl et al., 2013).

Entre os colonizadores primários também é possível identificar espécies (anaeróbias) como *Haemophilus spp*, *Capnocytophaga spp*, *Veillonella spp*, e *Neisseria* em menores quantidades (Marsh, Martin, Lewis & Williams 2009).

As bactérias *Streptococcus* apresentam a maior produção de bacteriocinas. Estas são capazes de lisar outras bactérias e, por isso esta bactéria tem uma maior competitividade e capacidade para a formação de biofilmes (Mancl et al., 2013).

Os receptores podem ser mucinas sialiladas, proteínas ricas em prolina, α -amilase, aglutininas salivares e fragmentos de células bacterianas. As proteínas ricas em fosfato

como a estaterina e enzimas como a α -amilase podem ser encontradas entre os receptores. As bactérias anaeróbicas gram-negativo e *Fusobacterium* ligam-se às estaterinas e as bactérias *Actinomyces* ligam-se a proteínas ricas em prolina e também, às estaterinas (Le et al., 2015).

Fusobacterium nucleatum é considerada a espécie que relaciona os colonizadores primários e secundários, visto que se co-agrega com os *Actinomyces* e *Streptococcus* (colonizadores primários) e com *Selenomonas spp* e *Eubacterium spp* (colonizadores secundários) (Mancl et al., 2013).

Os colonizadores secundários são *P. gingivalis*, *T. denticola*, *Eubacterium spp.*, *Prevotella intermedia*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythensis* e *Selenomonas flueggei* e *Streptococcus mutans* (Mancl et al., 2013).

A prevalência de *Streptococcus mutans* aumenta na cavidade oral porque estes são capazes de competir com outras espécies e através das suas defesas, resistirem ao stress oxidativo, bem como, aos produtos ácidos do metabolismo dos hidratos de carbono (Kilian et al., 2016).

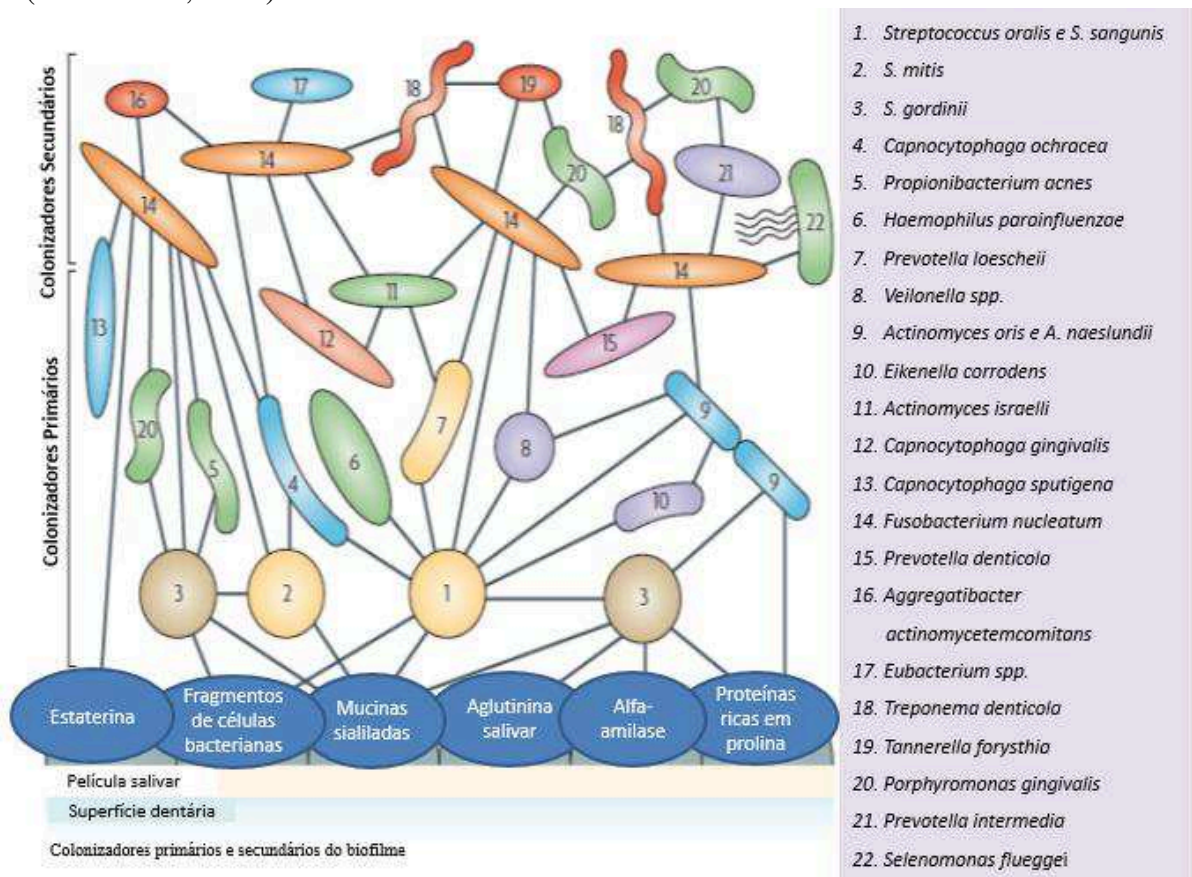


Fig.7 Colonizadores primários e secundários do biofilme (Adaptado de (Kolenbrander et al., 2010))

2.5. A placa bacteriana como biofilme

Um cientista holandês, *Antonie van Leeuwenhoek* com auxílio de um microscópio, observou placa bacteriana e descreveu-a como sendo uma incrustação, a data de 1684 (Technique, 1932)

Existem vários estudos sobre o biofilme dentário visto que este tem um papel de extrema relevância na área da Medicina Dentária (Le et al., 2015).

Um dos biofilmes mais estudados é a placa bacteriana que se forma nas superfícies da cavidade oral (Marsh, 2004).

O biofilme formado por placa bacteriana é considerado uma mistura de biofilmes. A composição do biofilme de placa bacteriana saudável é bem diferente do biofilme da placa dentária associada a doença (Marsh, 2004).

Desta forma, quando o biofilme está em simbiose, apresenta uma barreira protectora contra os ácidos provenientes da dieta e contra os microrganismos patogénicos. No entanto, se o biofilme não for removido, através de técnicas de higiene adequadas, e se continuar o seu desenvolvimento, entra num estado de disbiose e favorece o crescimento de microrganismos patogénicos que influenciam negativamente a saúde dos tecidos orais bem como, a saúde geral da pessoa (Øilo & Bakken, 2015).

A placa bacteriana pode ser considerada um bom exemplo de biofilme formado por diversas camadas na superfície dos dentes e que formam uma comunidade complexa de microrganismos que interagem entre si e contribuem para o desenvolvimento do biofilme (Donnell et al., 2015).

Para que o biofilme dentário comece a ser formado é necessário que exista uma interacção entre as bactérias do meio oral e a superfície do esmalte dos dentes. As bactérias aderidas organizam-se e formam a chamada placa bacteriana. Se não existirem factores predisponentes para que ocorra esta adesão as bactérias são lavadas pelo fluido oral (Le et al., 2015).

A película aderida ao esmalte que cobre a superfície dos dentes provém de exoenzimas bacterianas e de proteínas salivares que derivam da saliva do hospedeiro e das bactérias presentes no meio oral (Bowen et al., 2017).

Através de interações altamente especializadas adesina-receptor por forças electroestáticas ou hidrofóbicas, as bactérias *Streptococcus* e *Actinomyces*, colonizadores primários, e aderem à película da superfície do esmalte (Marsh et al., 2015).

O fenómeno de co-adesão ocorre quando as bactérias aderem aos tecidos epiteliais, aos dentes ou a outras bactérias que estão imóveis na superfície. Por outro lado, o fenómeno de co-agregação corresponde à interacção de células geneticamente diferentes e pode ocorrer em suspensão (Le et al., 2015).

Estes dois mecanismos desencadeiam a colonização microbiana e, consequente início da formação o biofilme dentário (Bowen et al., 2017).

As bactérias presentes em biofilmes saudáveis apresentam uma baixa tolerância à acidez e são, entre outras, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus oralis* e *Actinomyces*. Por outro lado, as bactérias associadas a biofilme patogénico apresentam uma alta tolerância à acidez e, costumam ser *Streptococcus mutans* e *Streptococcus sobrinus* (Le et al., 2015).

Desta forma, quando a placa bacteriana presente não é controlada leva ao aparecimento de lesões cariosas e estados de doença periodontal (Donnell et al., 2015).

A composição da placa varia consoante a localização da cavidade oral em que se encontra. A placa bacteriana pode acumular-se nas margens gengivais dos dentes, nas fissuras dos dentes ou entre os dentes (Marsh, Martin, Lewis & Williams 2009; Marsh & Bradshaw, 1995).

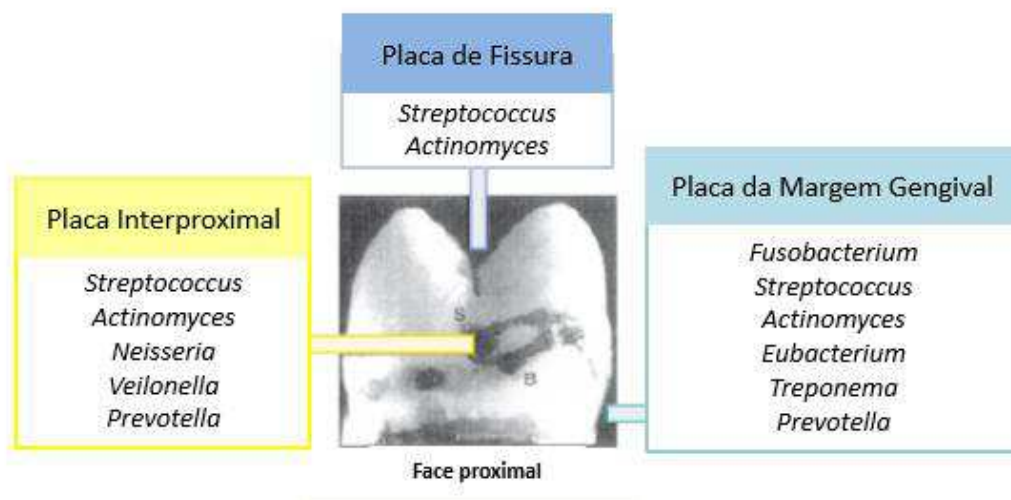


Fig.8 Bactérias predominantes nas diferentes localizações dentárias (Marsh et al.,2009)

A composição da placa bacteriana da margem gengival é muito influenciada pelo fluido crevicular e apresenta grandes quantidades de espécies anaeróbias como *Peptostreptococcus*, *Actinomyces* (*A. odontolyticus*, *A. naeslundii*, *A. georgiae*), *Propionibacterium*, '*Bacteroides*', *Fusobacterium*, *Prevotella*, *Rothia dentocariosa*, *Selenomonas* e *Veillonella* que são capazes de captar energia do catabolismo das glicoproteínas e proteínas do hospedeiro (Marsh, Martin, Lewis & Williams 2009; Marsh & Bradshaw, 1995).

O anaeróbio pigmentado de preto mais comum é a *Prevotella melaninogenica*, também pode existir espécies de *Capnocytophaga ochracea* e espiroquetas como, *Treponema vincentii*, *T. denticola*, *T. maltophilum* e *T. lecithinolyticum* (Marsh, Martin, Lewis & Williams 2009; Marsh & Bradshaw, 1995).

A placa bacteriana das fissuras da face oclusal dos pré-molares e molares apresentam espécies Gram-negativas como *Veillonella spp* e *Propionibacterium* e espécies Gram-positivas como os *Streptococci*, normalmente produtores de polissacarídeos (Marsh, Martin, Lewis & Williams 2009; Marsh & Bradshaw, 1995).

Em menores quantidades podem ser identificadas espécies de *Haemophilus parainfluenzae* e *Neisseria spp* (Marsh, Martin, Lewis & Williams 2009; Marsh & Bradshaw, 1995).

Os *Lactobacillus* e os *Streptococcus mutans* preferem as camadas mais profundas da superfície das fissuras dos dentes posteriores (Marsh, Martin, Lewis & Williams 2009; Marsh & Bradshaw, 1995).

A placa bacteriana entre os dentes, chamada placa interproximal, apresenta predominantemente espécies de *Streptococci* e *Actinomyces* e bactérias Gram-negativas como, *Prevotella*, *Fusobacterium* e *Veillonella* (Marsh, Martin, Lewis & Williams 2009; Marsh & Bradshaw, 1995).

Geralmente a placa interproximal costuma ter uma maior diversidade que a placa das fissuras. Os *A. naeslundii* e *A. odontolyticus* são encontrados frequentemente abaixo do ponto de contacto dos dentes, tal como, os *S. mutans* e *S. sobrinus*, que estão envolvidos no processo da cárie (Marsh, Martin, Lewis & Williams 2009; Marsh & Bradshaw, 1995).

Por outro lado, espécies como, *S. mitis*, *S. sanguinis* e *Neisseria* são encontradas acima ou à volta do ponto de contacto dos dentes (Marsh, Martin, Lewis & Williams 2009; Marsh & Bradshaw, 1995).

2.6. Factores que influenciam o biofilme

A saliva, nutrientes, proteínas, glicoproteínas e fluido crevicular presentes na cavidade oral, bem como o seu ambiente húmido e quente permite que os microrganismos se organizem e formem comunidades que dão origem ao biofilme (Devine et al., 2015).

Desta forma, com os diferentes componentes da saliva é possível controlar o desenvolvimento do biofilme na cavidade oral (Kilian et al., 2016).

O biofilme é influenciado por diversos factores que influenciam a sua estrutura, tais como a presença de oxigénio, os níveis de pH, os nutrientes, síntese de material extracelular, as diferentes localizações, o tipo de superfície, bem como, o tempo que passou desde a última escovagem dentária (Bowen et al., 2017; Øilo & Bakken, 2015).

O biofilme removido diariamente tem uma composição diferente daquele que não é removido e que mantém o seu desenvolvimento (Øilo & Bakken, 2015).

As bactérias distribuem-se de acordo com a disponibilidade de oxigénio no biofilme. Desta forma, as bactérias aeróbias que necessitam de mais oxigénio localizam-se nas camadas superiores do biofilme enquanto as anaeróbias se localizam nas camadas mais profundas porque não são dependentes da presença de oxigénio (Flemming et al., 2016).

A composição bacteriana do biofilme é influenciada pelas mudanças do meio ambiente em que se encontra. No caso do meio oral este é influenciado por vários factores tais como, as variações de temperatura, a presença de água, o tipo de superfície e da disponibilidade de azoto e carbono (Le et al., 2015).

Além destes factores, a colonização bacteriana da cavidade oral é influenciada pelas interacções entre a dieta do hospedeiro e os agentes patogénicos da boca, bem como, a competitividade entre os microrganismos (Bowen et al., 2017; Flemming et al., 2016).

A composição do biofilme pode ser influenciada pelo número de dentes em boca, coroas, pontes, restaurações, próteses removíveis e implantes. Dependendo das condições em que o biofilme é formado e das bactérias que o constituem o biofilme pode ter morfologias variadas (Kilian et al., 2016; Le et al., 2015; Øilo & Bakken, 2015).

Por outro lado, existem hábitos como, a falta de higiene oral, a dieta, o consumo de tabaco, álcool ou drogas, a inflamação gengival, a idade, o sistema imune, patologias sistêmicas, hipossalivação decorrente da toma de fármacos e a presença de disfunção das glândulas salivares, que interferem no equilíbrio do biofilme e são capazes de causar doença (Bowen et al., 2017; Marsh et al., 2014).

No caso o indivíduo ter uma dieta rica em açúcares e hidratos carbono, há uma maior produção de ácidos que podem desencadear lesões cariosas na superfície dos dentes. Os ácidos presentes na cavidade oral desencadeiam uma descida do pH que influencia o desenvolvimento dos microrganismos, já que só alguns é que são tolerantes a este tipo de variações (Bowen et al., 2017).

2.7. Colonização dos biomateriais dentários

A composição e a forma dos biomateriais usados na cavidade oral afectam o microbioma oral e pode ter efeitos positivos e negativos no equilíbrio do hospedeiro. Os biomateriais usados podem alterar as condições fisiológicas, químicas e mecânicas inerentes à cavidade oral (Øilo & Bakken, 2015).

Para manter o equilíbrio do microbioma, é necessário que o material utilizado seja biocompatível. Este termo define a “capacidade de coexistir em harmonia com o meio biológico envolvente”, segundo o *Glossary of Prosthodontic Terms* (Driscoll et al., 2017).

A microbiota oral e a formação do biofilme são influenciadas pela presença de diferentes biomateriais restauradores na cavidade oral (Øilo & Bakken, 2015).

À data de 1966, o *Glossary of Prosthodontic Terms* definiu o termo biomaterial como “qualquer substância/dispositivo que pode ser utilizada durante qualquer período de tempo como sendo parte do sistema que trata, aumenta ou substitui qualquer tecido, órgão ou função do corpo” (Driscoll et al., 2017).

O interesse em reduzir a formação do biofilme nos biomateriais é cada vez maior e, por isso, um dos importantes factores para o sucesso clínico é a capacidade do biomaterial inibir o desenvolvimento do biofilme (Øilo & Bakken, 2015; Teughels et al., 2006).

Os dispositivos médicos como válvulas cardíacas, tubos de incubação, cordas vocais artificiais e outros biomateriais presentes em meios húmidos, como é o caso da

cavidade oral, constituem uma preocupação pelo facto de poderem proporcionar a formação do biofilme (Francolini & Donelli, 2010).

Existem propriedades físicas dos biomateriais restauradores utilizados que influenciam a formação e adesão do biofilme aos diferentes tipos de superfície da cavidade oral. A adesão de microrganismos é influenciada por propriedades como, a porosidade, a composição química, a hidrofobicidade, a rugosidade e a energia de superfície. Por sua vez, estas propriedades são influenciadas pelo tipo de polimerização, pelos materiais utilizados e por modificações na superfície do material (Aslanimehr, Rezvani, Mahmoudi, & Moosavi, 2017; Teughels et al., 2006).

A *composição química* afecta a colonização bacteriana porque os microrganismos e as proteínas podem sofrer forças de atracção através de reacções ácido-base, forças electrostáticas e forças *van der Waal* e permitir a adesão do biofilme. As propriedades do material vão sendo alteradas ao longo do tempo devido a este tipo de interacções químicas (Øilo & Bakken, 2015).

A *energia de superfície* influencia a adesão do biofilme. No caso desta ter um valor mais baixo existe uma menor probabilidade de formação do biofilme. A maioria dos materiais restauradores tem uma energia de superfície mais elevada que o esmalte, exceptuando as cerâmicas, e, por isso há um maior risco de desenvolvimento do biofilme na generalidade dos materiais (Øilo & Bakken, 2015).

A *rugosidade da superfície* influencia a adesão do biofilme porque, no caso de ter um valor mais elevado tem uma maior afinidade para as bactérias e dificulta a remoção do biofilme através de higienização mecânica. Por outro lado, uma superfície mais lisa, com menor rugosidade, facilita a higienização e não favorece a colonização bacteriana (Teughels et al., 2006).

A rugosidade de superfície aumenta ao longo do tempo que os materiais restauradores estão em boca e as fissuras existentes devido a rugosidade facilitam a agregação bacteriana. Existe um valor para a rugosidade de superfície que é considerado o limiar para a adesão bacteriana. O valor considerado é $Ra=0,2 \mu m$ e, acima deste valor há uma maior tendência para a acumulação do biofilme (Øilo & Bakken, 2015).

A diferença de colonização dos diferentes materiais pode ser influenciada pela interacção que existe entre as proteínas salivares com a superfície a que aderem e com os microrganismos orais (Sussewind et al., 2015a).

Desta forma, a presença de restaurações na boca altera o equilíbrio químico e, se existirem fissuras ou espaços vazios entre a restauração e o dente há um maior dificuldade na remoção de placa bacteriana (Øilo & Bakken, 2015).

Por essa razão, a maioria das restaurações dentárias precisa de ser substituída porque o biofilme está relacionado com o aparecimento de cáries secundárias normalmente associado a restaurações partidas ou em que existe um grande desgaste do material restaurador (Olms et al., 2018).

No caso da **amálgama**, a restauração não é directamente aderida ao dente criando um espaço vazio que permite a colonização bacteriana e o surgimento de cáries secundárias (Øilo & Bakken, 2015)

No caso da **resina composta**, a restauração é aderida através de um adesivo evitando a formação de espaços vazios entre o dente e a restauração, mas que, por outro lado, está dependente de uma técnica cuidadosa que evite a criação de espaços vazios provenientes da contração de polimerização da resina. As resinas compostas são conhecidas pelo seu fenómeno de contração de polimerização que pode desencadear espaços vazios, permitir a penetração de microrganismos e favorecer o aparecimento de cáries secundárias, que poderão ser evitadas se for possível diminuir este tipo de contração (Øilo & Bakken, 2015).

No caso de **coroas em cerâmica**, o cimento é responsável por unir a interface dente/restauração sem espaços vazios, mas, por outro lado, o cimento é sujeito a desgaste e leva a irregularidades na superfície permitindo a colonização bacteriana (Øilo & Bakken, 2015).

Os **metais** utilizados em boca podem ser polidos e diminuir a acumulação do biofilme, mas, por outro lado, existem metais que tem afinidade com algumas bactérias e interagem com elas através de interacções electrostáticas (Busscher, Rinastiti, Siswomihardjo, & Van Der Mei, 2010).

As **restaurações em ouro** têm cada vez menos viabilidade. A perfeita adaptação entre o dente a restauração é difícil de conseguir em todas as localizações e continua a ser um problema recorrente na Medicina Dentária, visto que, as margens mal-adaptadas ou desgastadas dificultam a higienização e permitem o desenvolvimento do biofilme (Øilo & Bakken, 2015).

Os **implantes dentários**, são, na sua maioria, feitos de titânio e apresentam duas partes, uma que é integrada no osso alveolar e substitui as raízes dentárias e outra parte externa que fica exposta ao meio oral. Normalmente, a parte exposta apresenta uma superfície lisa e fácil de higienizar enquanto a parte interna apresenta uma superfície rugosa para facilitar a osteointegração. É normal que existam espaços vazios entre estas duas partes e, por conseguinte, leva a colonização bacteriana nessas localizações (Subramani et al., 2009).

Se as bactérias patogénicas da microbiota oral invadirem este espaço e acederem a superfície interna rugosa antes que se desenvolva osso dá-se um fenómeno a que se chama periimplantite que impede a correcta osteointegração do implante. Esta inflamação propaga-se rapidamente e é difícil de conter porque as bactérias podem disseminar através do osso ou da corrente sanguínea. Ao contrário da periodontite, a periimplantite é conhecida por ter uma maior diversidade de espécies bacterianas e fúngicas, o que, provavelmente, advém do tipo de material utilizado, o titânio (Busscher et al., 2010; Subramani et al., 2009).

Os **cimentos de ionómero de vidro** são capazes de libertar flúor e diminuir a desmineralização do esmalte e a dentina do dente adjacente ao cimento, no entanto, o mesmo não acontece com os polímeros (Øilo & Bakken, 2015).

Os polímeros podem ser ionómeros de vidro, resinas compostas ou acrílicas e são conhecidos por apresentarem uma superfície mais porosa e irregular que o esmalte, os metais e as cerâmicas. Nas superfícies destes polímeros o desenvolvimento do biofilme é mais rápido porque as porosidades são preenchidas com humidade e permitem o desenvolvimento das bactérias, que por sua vez, vão libertar resíduos ácido que tornam a superfície mais rugosa e dificultam a remoção eficaz do biofilme (Busscher et al., 2010).

Tendo em conta que estes materiais têm mais tendência para ter uma superfície rugosa elaboraram-se protocolos de polimento e acabamento para diminuir a rugosidade da superfície (Busscher et al., 2010).

Por outro lado, as superfícies lisas, polidas e fáceis de higienizar são encontradas em restaurações cerâmicas, no entanto, devido aos procedimentos de usinagem utilizados na sua preparação podem conter algumas irregularidades na margem das coroas e favorecer o desenvolvimento do biofilme (Øilo & Bakken, 2015).

As **próteses removíveis** funcionam como novas superfícies para formação de maior quantidade de biofilme e alteram o equilíbrio do ecossistema oral que existe entre microrganismos não-patogénicos e patogénicos. A mucosa em contacto com a prótese sofre alterações, há uma redução do nível de oxigénio e os microrganismos aeróbios presentes são substituídos por anaeróbios (Øilo & Bakken, 2015).

Os microrganismos orais são capazes de se depositar sobre a prótese dentária da mesma forma que se depositam nos dentes e mucosa oral. As propriedades, rugosidade da superfície, porosidade, hidrofobicidade e energia de superfície da base protética, estão directamente relacionadas com a maior adesão e acumulação de microrganismos, nomeadamente bactérias e leveduras do género *Candida* (Francolini & Donelli, 2010; Delgado et al., 2018).

A superfície acrílica da prótese pode desencadear reacções adversas que se manifestam através do aparecimento de feridas na mucosa oral e são facilmente colonizadas por bactérias e fungos, causando dor e inflamação (Aslanimehr et al., 2017).

As reacções adversas provêm do contacto da mucosa oral com as resinas convencionais PMMA. Por conseguinte, foi necessário desenvolver alternativas que mantivessem as propriedades das resinas tradicionais, mas, por outro lado, não causassem reacções inflamatórias da mucosa. Assim, surgiram as resinas hipoalergénicas, como é o caso da poliamida (Susewind et al., 2015).

A poliamida é um material mais macio e menos poroso havendo, por isso uma menor possibilidade de formação do biofilme (Aslanimehr et al., 2017).

No entanto, em 2011, um estudo demonstrou o maior crescimento do biofilme de *Candida* associado a uma resina poliamida do que numa resina PMMA (Susewind et al., 2015). Ainda outro estudo, demonstrou que a adesão e o crescimento do biofilme de *Candida* podem ser reduzidos devido à presença do monómero residual da resina PMMA (Vojdani & Giti, 2015).

Na resina PMMA verificou-se uma maior diversidade de bactérias e um aumento do crescimento de bactérias anaeróbias. No entanto, ambas as resinas, PMMA e poliamida são passíveis de ser usadas em clínica (Olms et al., 2018).

Quando a prótese não está adaptada também pode levar ao aparecimento de lesões na cavidade oral do portador de prótese (Susewind et al., 2015a).

Desta forma, para contrariar a desadaptação da prótese e a sua superfície rugosa recorre-se a rebases que utilizam materiais como, siloxanos polivinílicos, resina acrílica que contém plastificantes ou resina acrílica de secagem fria. No entanto, estes materiais favorecem a colonização bacteriana e fúngica por apresentarem uma superfície mais porosa que os acrílicos de secagem quente (Øilo & Bakken, 2015).

Os materiais mais macios são mais confortáveis para o paciente, no entanto, por apresentarem mais poros podem ser considerados prejudiciais em casos de má higiene oral visto que, há uma maior tendência para o desenvolvimento de infecções (Susewind et al., 2015).

A fim de melhorarem os materiais utilizados no fabrico de próteses, deve ser considerado que o biofilme é constituído por uma grande variedade de bactérias, incluindo *Streptococcus* e os modelos utilizados em investigação devem incluir a formação de película associada à saliva que é essencial para a relação da *Candida albicans* com a microbiota da cavidade oral (Morse et al., 2018).

Pelo facto de existir uma dificuldade em mimetizar a composição exacta do biofilme em laboratório, os resultados dos estudos in vitro e in vivo são díspares e muitos deles optam por avaliar apenas um tipo de superfície ou um tipo de bactéria, tornando difícil a comparação dos mesmos (Koch et al., 2013).

Está descrito que a propagação e desenvolvimento do biofilme associado ao fungo *Candida albicans* pode ser afectada pelas propriedades físicas do material utilizado para as bases protéticas. Essas propriedades são nível de hidrofobicidade e a energia de superfície dos materiais utilizados. (Koch et al., 2013; Susewind et al., 2015).

Alguns estudos sugerem que devido ao grau de hidrofobicidade de *Candida*, em superfícies com grande contribuição polar para a energia de superfície, existe um aumento de proliferação de *Candida albicans* (Koch et al., 2013).

Desta forma, torna-se necessário investir no desenvolvimento de estratégias que melhorem as propriedades dos materiais utilizados na produção da prótese e que, por conseguinte, impeçam a adesão e a propagação de *Candida albicans* (Susewind et al., 2015).

Num estudo, em 2018, mais de 50% das amostras retiradas da base da prótese apresentavam *Actinomyces*, *Atopobium*, *Capnocytophaga*, *Neisseria*, *Prevotella*, *Streptococcus* e *Veillonella parvula*. Nenhuma das amostras teve a presença de

Staphylococcus aureus e só duas é que tinham a presença de *Staphylococcus epidermidis* (Olms et al., 2018).

Em relação ao fungo *Candida albicans*, o estudo de Susewind e colaboradores, em 2015, demonstrou que o crescimento do biofilme de *Candida* foi superior em superfícies metálicas e inferior na resina de PMMA. O biofilme teve um grau de proliferação superior na superfície de cromo-cobalto, visto que, este material tem uma grande contribuição polar para a energia de superfície (Susewind et al., 2015).

Foi realizado um estudo que mostrou que a adesão de *Candida albicans* às resinas acrílicas convencionais foi maior do que em resinas acrílicas por moldagem injectável. Isto poderá ter ocorrido porque as resinas por moldagem injectável são preparadas em cartuchos enquanto as resinas acrílicas convencionais são conhecidas pelo seu modo de apresentação pó + líquido misturados à mão. Este facto pode criar bolhas de ar e aumentar a porosidade da superfície e, consequentemente aumentar a adesão de *Candida albicans* a este tipo de material. A hidrofobicidade, a energia de superfície e a rugosidade também poderão ter influência na adesão deste tipo de espécies (Aslanimehr et al., 2017).

As resinas acrílicas de moldagem injectável trazem muitas vantagens relativamente às resinas acrílicas convencionais. As vantagens são serem menos susceptíveis a erros, boa estabilidade dimensional, boa adaptação dos tecidos, mais fácil de trabalhar, menor adesão de placa bacteriana, menor adesão de *Candida* à base protética, o que, por sua vez, leva a um menor desenvolvimento de infecções orais (Al-Bakri et al., 2014).

Há muito poucos estudos que relacionam a constituição do biofilme na superfície de bases protéticas e a sua compatibilidade com os tecidos (Olms et al., 2018).

No entanto, têm havido cada vez mais esforços no intuito de diminuir a formação do biofilme através da melhoria dos biomateriais utilizados, seja por alteração das propriedades da superfície para diminuir a adesão do biofilme ou por redução da viabilidade da adesão das bactérias através de compostos químicos (Øilo & Bakken, 2015).

3. Prótese

Segundo a 3ª edição do Barómetro da Saúde Oral, a Ordem dos Médicos Dentistas (OMD), em Portugal, aferiu em 2017 que 97,8% dos inquiridos escova os dentes com frequência, mas, apenas 30% utiliza fio dentário (OMD, 2017).

Quanto à dentição presente apenas 32% dos portugueses apresentam dentição completa, ou seja, 68% tem ausência de dentes. Dos 68%, 6,2% tem ausência total de dentes e 61,5% tem ausência de 1 ou mais dentes (OMD, 2017).

Em relação à substituição de dentes naturais, apenas 42,6% dos que têm ausência de dentes naturais recorrem a algum tipo de substituição, ou seja, 57,4% dos inquiridos não recorrem a nenhum meio de substituição. Dos que não recorrem a nenhum tipo de substituição, 36,6% tem ausência de mais de 6 dentes. Quanto ao tipo de substituição realizada, 35,8% recorre a próteses removíveis e 6,7% recorre a prótese fixa. Dos portugueses que são portadores de prótese, 59,8% utiliza prótese superior e inferior, 28,8% superior e 11,3% inferior (OMD, 2017).

A perda de peças dentárias requer um tratamento de substituição, visto que, se relaciona com problemas de mastigação, estética, fala, auto-estima e manutenção de estruturais faciais (Cano-Gutiérrez, Borda, Arciniegas, & Borda, 2015; Gupta et al., 2018).

Em relação às visitas ao dentista 55,5% faz *check-up*'s uma ou mais vezes por ano, mas, por outro lado, ainda existem 27,1% que nunca vão ao dentista ou que o fazem apenas em situações de urgência (OMD, 2017).

É necessário que os doentes compreendam a importância das consultas periódicas ao dentista para manutenção da saúde oral e das estruturas oro-faciais, bem como, da saúde geral do indivíduo (Campbell et al., 2017).

As razões da última consulta são maioritariamente para limpeza, *check-up* ou ortodontia (45,7%) e apenas 11,1% foram para tratamentos relacionados com a prótese (OMD, 2017).

Também a prótese requer consultas de manutenção periódicas para que seja possível manter a sua função ideal ou alterar estruturas que melhorem a qualidade de vida do portador de prótese (Gupta et al., 2018).

Apenas 10,5% tem como intenção de tratamento a substituição de dentes naturais perdidos (OMD, 2017).

Também foi possível relacionar a regularidade de visitas ao dentista e a falta de dentes. Desta forma, verificou-se que à medida que aumenta a falta de dentes, o número de visitas ao dentista diminui e, o contrário também acontece (OMD, 2017).

3.1. Edentulismo

O edentulismo é considerado uma doença, segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), e é caracterizado pela ausência total de dentes (Cano-Gutiérrez et al., 2015).

O edentulismo pode ser classificado como edentulismo parcial, se se tratar da perda de pelo menos um dente ou edentulismo total no caso de se tratar da perda de todos os dentes. Está associado a casos de saúde oral deficiente e pode ser consequência de estados de doença periodontal e cáries (Cano-Gutiérrez, Borda, Arciniegas, & Borda, 2015).

A ausência parcial de dentes é mais comum que a ausência total (Jayaraman et al., 2018). Nos próximos 15 anos é estimado que nos EUA existam mais de 200 milhões de pessoas com edentulismo parcial tendo em conta que os cuidados da saúde oral aumentaram e por esse facto há uma menor perda de dentes que, consequentemente leva a um aumento de edentulismo parcial do que total (Campbell et al., 2017).



Fig. 9 Ortopantomografia de doente com edentulismo total (Basker, R.;Davenport,J.;Thomason,J., 2011)

O edentulismo total pode ser considerado uma condição irreversível e crónica que afecta não só a saúde oral, mas também a saúde geral de qualquer pessoa (Jayaraman et al., 2018).

O edentulismo parece estar num período de decadência devido às mudanças demográficas e ao aumento da esperança média de vida. Assim é de esperar que o edentulismo diminua nos países industrializados visto que os dentes naturais se mantêm em boca durante mais tempo (Cano-Gutiérrez et al., 2015).

Num estudo de *Douglas* e colaboradores, foi previsto que até 2020, nos EUA, devido ao aumento da população idosa causado pelo aumento da esperança média de vida, a população com edentulismo irá subir de 34 milhões para os 38 milhões de pessoas (Douglass, Shih, & Ostry, 2002).

Outro estudo refere que, tendo em conta que a perda de dentes tem tendência a aumentar com a idade, e que existe um aumento na esperança média de vida é provável que a presença de pessoas com edentulismo parcial e total venha a aumentar nos próximos anos (Jayaraman et al., 2018).

Isto ocorre devido ao desenvolvimento de técnicas de prevenção da saúde oral bem como, o desenvolvimento dos materiais restauradores (Cano-Gutiérrez et al., 2015).

Em 2010, o edentulismo afectava 2,3% da população mundial e foi considerado uma das cinquenta doenças mais frequentes na população (Jayaraman et al., 2018).

Num estudo de 2018 com 42 países, a população com 65 ou mais anos mostrou ter uma taxa de edentulismo de 1,3% a 78% (Gupta et al., 2018).

O edentulismo varia na população mundial de 3 a 21% e está relacionado com o nível de educação, o estatuto socioeconómico, a demografia, o rácio dentistas/doentes, a idade, a raça, as possibilidades económicas, o género e a consciência para a saúde oral (Jayaraman et al., 2018).

A população idosa com edentulismo continua a ser um desafio para o médico-dentista tendo em conta, a sua idade, a fragilidade, as condições anatómicas e o controlo muscular que dificultam o fabrico de uma prótese com suporte, retenção e estabilidade adequadas (Gupta et al., 2018).

O edentulismo tem um grande impacto na qualidade de vida da população idosa. Esta população tem graves problemas no acesso a cuidados de saúde oral, porque os

tratamentos têm custos elevados e nem sempre são cobertos pelos seguros. O acesso a este tipo de serviços é limitado, há falta de informação sobre os cuidados de saúde oral e a higiene oral é deficiente. As patologias orais na população idosa relacionam-se com problemas sociais, de auto-estima, de mastigação e de comunicação (Cano-Gutiérrez, Borda, Arciniegas, & Borda, 2015).

O edentulismo continua a ser comum na população mundial e desencadeia impactos negativos na qualidade de vida e saúde geral do paciente, tanto a nível fisiológico como, a deterioração da musculatura e dos tecidos orofaciais, problemas funcionais relacionados com a mastigação, mas também, a nível psicossocial influenciando a fala, a aparência e a estética (Gupta et al., 2018).

Existe uma variedade de comorbidades associadas ao edentulismo, tais como, a debilidade, o agravamento de doenças crónicas e a má nutrição que conduzem a estados débeis de saúde geral (Cano-Gutiérrez et al., 2015; Jayaraman et al., 2018).

Em vários estudos foi provado que o edentulismo tem influência no aparecimento de certas morbilidades como, pneumonia, DPOC, obesidade, cancro da cabeça e pescoço, défices cognitivos e risco aumentado de mortalidade (Gupta et al., 2018; Jayaraman et al., 2018).

A situação clínica do edentulismo tem sido tratada, pelos médicos dentistas há mais de um milénio (Gupta et al., 2018).

A substituição dos dentes naturais previne movimentações dentárias indesejáveis e reestabelece a função mastigatória e a estética (Moldovan, 2018).

O tratamento para o edentulismo pode ser através de uma reabilitação oral com recurso a implantes com próteses fixas ou com próteses removíveis (Gupta et al., 2018).

O tratamento do edentulismo deve ter como opção uma solução fixa, mas, por outro lado, devido a custo do tratamento e a situações fisiológicas e anatómicas em que não é possível reabilitar através de uma solução fixa continua-se a optar por soluções de tratamento removíveis (Moldovan, 2018).

Pelo facto do tratamento estar relacionado com o estatuto socioeconómico da pessoa, a prótese dentária removível parcial ou total, continua a ser a opção de tratamento mais frequentemente utilizada, que outros tratamentos com custos mais elevados (Campbell et al., 2017; Jayaraman et al., 2018; Moldovan, 2018).

No entanto, apesar de restabelecer a estética e a função, este tipo de próteses traz alguns problemas como a deterioração da saúde do paciente comparativamente ao uso de próteses fixas. Essas complicações incluem índices elevados de placa, gengivite e cárie, perda dos dentes pilares, situações de estomatite protética, problemas ao nível da articulação temporo-mandibular, bem como, perda de inserção periodontal (Moldovan, 2018).

3.2. Resinas acrílicas

As resinas acrílicas são bastante utilizadas em Medicina Dentária, e são frequentemente usadas em prótese para o fabrico de bases protéticas e em aplicações ortodônticas (Gautam et al., 2012; Goiato, Freitas, Dos Santos, De Medeiros, & Sonego, 2015; Rashid, Sheikh, & Vohra, 2015).

As resinas acrílicas utilizadas no fabrico de próteses são baseadas em polímeros acrílicos que são, frequentemente, polimetacrilatos (PMMA) ou de uretanometacrilatos (UDMA) (Gautam et al., 2012).

O material ideal para o fabrico de bases protéticas deve ser biocompatível, ter propriedades físicas e mecânicas adequadas e ser estético (Gad, Fouda, Al-Harbi, Näpänkangas, & Raustia, 2017).

O polimetilmetacrilato (PMMA) é um polímero que tem sido largamente utilizado como material dentário em prótese removível e, é considerado um termoplástico transparente desde 1978 (Takeyama et al. 1978).

O PMMA é o material de eleição porque apresenta vantagens como, boas propriedades mecânicas, estabilidade em meio oral, capacidade de adaptação, estética aceitável, fácil de utilizar, biocompatibilidade, fabrico simples, possibilidade de ser maquilhado ou ser adaptado, boa disponibilidade e baixo custo (Cierech et al., 2016; Gad et al., 2017; Goiato et al., 2015; Raj & Dentino, 2013; Sivakumar et al., 2014).

Por outro lado, apresenta algumas desvantagens como a sua susceptibilidade à deformação e à fractura, a absorção de água, que pode levar à formação de fissuras na superfície, fenómeno a que se dá o nome de “*crazing*” e que pode desencadear a alteração

da cor e presença de mau-odor. Esta situação e as irregularidades presentes na superfície da resina acrílica favorecem a colonização bacteriana da prótese (Gad et al., 2017).

Além disto, tem uma desvantagem muito indesejável porque permite deposição de placa na superfície da base protética e esta, pode desencadear diversas consequências negativas devido à presença do biofilme na prótese. Também permite a colonização bacteriana e fúngica por *Candida albicans* levando a situações inflamatórias, tais como, a estomatite protética, que interfere na qualidade de vida e no conforto do paciente (Raj & Dentino, 2013, Sivakumar et al., 2014, Cierech et al., 2016).

A desvantagem mais comum é o aparecimento de reacções alérgicas que levam a inflamações que dor e ardor na boca. A resina acrílica pode ainda desencadear efeitos citotóxicos que são causados pelos monómeros residuais deixados na resina acrílica após a polimerização. Estes são levados pela saliva às várias localizações da cavidade oral e provocam efeitos adversos (Rashid et al., 2015).

A reacção de polimerização consiste na conversão de monómeros de metilmetacrilato em poli (metilmetacrilato) por uma reacção de adição em que os monómeros são adicionados numa cadeia crescente até se formar o polímero. Neste processo nem todas as moléculas de MMA são convertidas e, portanto, passam a chamar-se monómeros residuais não polimerizados (Rashid et al., 2015).

O monómero residual pode ser definido como substâncias que não foram incorporadas no polímero. Estas são livres e capazes de causar efeitos adversos locais e sistémico. A sua presença provoca efeitos indesejáveis como, a sensação de boca ardente, hipersensibilidade, ulceração, irritação local, dor, edema, eritema local, inchaço, irritação respiratória e edema labial bem como, casos de necrose, histiocitose e fibrose, porque os monómeros residuais são capazes de interferir na viabilidade celular porque interferem na função e morfologia das células (Gautam et al., 2012; Goiato et al., 2015).

A concentração de monómeros residuais é dependente do tratamento pós-polimerização e do método e do ciclo de polimerização escolhido (Gautam et al., 2012).

Pelo facto de apresentar estas desvantagens, têm sido feitas investigações com o intuito de introduzirem fibras, nanopartículas e “*fillers*” que melhorem as suas propriedades mecânicas e físicas (Gad et al., 2017).

Tal como explicado, a polimerização de um material é um fenómeno que converte os monómeros em polímeros, sendo por isso, fundamental para a resina acrílica, porque

desta forma ela atinge uma optimização das suas propriedades biológicas e físicas. No entanto, quando este fenómeno não é completo pode deixar alguns monómeros residuais e substâncias tóxicas como, o ácido metacrílico, metilmetacrilato, ácido benzóico, formaldeído, ftalato de dibutilo, salicilato de fenil e benzoato de fenil (Goiato et al., 2015).

Tendo em conta, que as resinas acrílicas são o maior constituinte da prótese e que a presença de monómeros residuais é inevitável, torna-se de grande interesse garantir que a prótese passa por uma polimerização adequada a fim de reduzir o risco de reacções alérgicas (Rashid et al., 2015).

A resina acrílica é composta por uma parte líquida de MMA e uma parte sólida de PMMA (Goiato et al., 2015). A composição das resinas inclui uma parte sólida em pó que apresenta polímeros (PMMA), iniciadores (peróxido benzóico) e pigmentos que são misturados numa parte líquida que contém monómeros (MMA, hexametileno-glicoldimetacrilato, hidroxil-etilmetacrilato, n-butilmetacrilato, e tetrahidrofurfuril-metacrilato), agentes de ligação (etileno-glicol-dimetacrilato -EGDMA, trimetilo-propano trimetacrilato ou 1,6-hexanediol dimetacrilato), um inibidor e um activador (Gautam et al., 2012, Goiato et al., 2015, Rashid et al., 2015).

O iniciador das resinas fotopolimerizáveis é o peróxido benzóico enquanto o das auto polimerizáveis é uma amina terciária, ácido sulfínico ou ácido barbitúrico. Os activadores utilizados em resinas acrílicas podem ser a luz, a radiação de micro-ondas, banhos de água quente ou N,N-dimetil p-toluidina (Gautam et al., 2012).

Mc Kabe e Walls, dividiram os diferentes polímeros utilizados para o fabrico de bases protéticas em cinco tipos: 1- fotopolimerizáveis, 2- autopolimerizáveis, 3- resinas termoplásticas, 4 - resinas activadas pela luz e 5- resinas activadas pela radiação micro-ondas (McCabe JF, Walls A., 2013).

Tipo	Classificação
1	Fotopolimerizável (pó+líquido)
2	Autopolimerizável (pó+líquido)
3	Resina tipo termoplástica
4	Resina activada pela luz
5	Resina polimerizada por radiação micro-ondas

Fig.10 Classificação de polímeros usados para o fabrico de bases protéticas
(Adaptado de ISO 20795-1, 2013)

A autopolimerização das resinas acrílicas é o tipo de polimerização mais utilizado, no entanto a fotopolimerização também é frequentemente utilizada (Goiato et al., 2015).

A citotoxicidade das resinas acrílicas depende da quantidade de monómeros residuais e é dose-dependente. A ausência de citotoxicidade ou biocompatibilidade pode ser definida como a capacidade de o material executar a sua função sem causar efeitos locais e/ou sistémicos indesejáveis (Goiato et al., 2015).

Existem vários factores que influenciam esta conversão nomeadamente a rácio pó/líquido utilizado na preparação da prótese, bem como a temperatura a que se dá esta conversão. Foi demonstrado que 7h em água a uma temperatura de 70°C seguida de 1h em água a 100°C desencadeava a máxima conversão do monómero (Rashid et al., 2015).

Kedjarune e colaboradores, bem como, *Saravi* e colaboradores afirmaram que as resinas autopolimerizáveis apresentam maior citotoxicidade visto que, a conversão dos monómeros em polímero é inferior às resinas acrílicas fotopolimerizáveis pois, estas são sujeitas à acção do calor (Ebrahimi Saravi, Vojdani, & Bahrani, 2012; Kedjarune, Charoenworulak, & Koontongkaew, 1999).

Também foi demonstrado que os tratamentos de aquecimento com radiação micro-ondas (20 minutos) e banhos de água quente diminuem a quantidade de monómeros residuais na resina acrílica (Saravi et al., 2012; Rashid et al., 2015)

A adição de biocidas no revestimento da resina acrílica foto-polimerizada, mostrou ser efectiva na redução do biofilme, da adesão de *Candida albicans* sem citotoxicidade (Goiato et al., 2015).

Uma das principais consequências da presença de monómeros residuais como o MMA, de esteres de ftalato e de aditivos como peróxido benzóico é a degradação do material (Gautam et al., 2012).

Ao contrário o que acontece na película aderida ao esmalte, na superfície das resinas acrílicas de PMMA não existem péptidos antimicrobianos. Pelo facto da superfície do PMMA ser não iónica, ao contrário do que acontece na superfície dos dentes, a adsorção dos péptidos antimicrobianos é menor e há uma menor defesa do hospedeiro portador de prótese (Raj & Dentino, 2013).

Grandes quantidades de plásticos como, benzoato e salicilato benzilo favorecem o crescimento fúngico, nomeadamente de *Candida albicans* e grandes quantidades MMA favorecem o crescimento bacteriano (Gautam et al., 2012).

As fissuras presentes na resina acrílica mostraram ter consequências negativas no crescimento bacteriano, nomeadamente, de *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* e *Escherichia coli* da mesma forma que os ftalatos, os agentes de ligação e o MMA favorecem a proliferação bacteriana (Gautam et al., 2012).

Desta forma, antes de serem entregues aos pacientes, as resinas autopolimerizáveis, por terem maior quantidade de monómeros residuais, devem ser sujeitas a imersões em água quente para diminuir os efeitos citotóxicos (Rashid et al., 2015).

3.3. Prótese removível

A prostodontia é uma área da Medicina Dentária que permite a manutenção e restauração da função oral, saúde, aparência e conforto do paciente através da restauração dos dentes naturais ou substituição das peças dentárias perdidas, bem como, dos tecidos craniofaciais através da utilização de substitutos artificiais (Carr, A.; Brown, D., 2016).

Em 1947, segundo o *Glossary of Prosthodontic Terms*, a prostodontia foi definida como “*área da medicina dentária que visa o diagnóstico, planeamento, reabilitação, manutenção da função oral, conforto, aparência e saúde do paciente com condições clínicas associadas à ausência de dentes e/ou tecidos maxilofaciais através do uso de substitutos biocompatíveis*” (Driscoll et al., 2017).

A prostodontia removível pode ser definida como o “*ramo da prostodontia que inclui a substituição de dentes e das estruturas adjacentes de pacientes com edentulismo parcial ou total, através de substitutos artificiais que são facilmente removidos da boca do paciente*” (Driscoll et al., 2017).

Já o termo prótese pode ser definido como um substituto artificial de peças dentárias e estruturas dentoalveolares. A prótese pode ser fixa ou removível. Uma prótese total pode ser definida como “*prótese dentária removível ou fixa que substitui a dentição completa e as estruturas associadas à mandíbula e/ou maxila*” (Jayaraman et al., 2018).



Fig. 11 Prótese total em resina acrílica



Fig. 12 Prótese inferior acrílica pigmentada

(Adaptado de Rickman, Padipatvuthikul, & Satterthwaite, 2012)

Segundo a ISO 20795-1, tal como *McKabe e Walls*, os polímeros utilizados para o fabrico de bases protéticas podem ser classificados em cinco tipos: tipo 1 - materiais fotopolimerizáveis, tipo 2 - materiais autopolimerizáveis, tipo 3 - termoplásticos brancos

ou pó, tipo 4 - materiais activados pela luz ou tipo 5 - materiais polimerizáveis por radiação micro-ondas (ISO 20795-1, 2013).

Segundo as normas da ISO 20795-1, a superfície da base protética deve apresentar uma superfície rígida, macia e brilhante (ISO 20795-1, 2013).

O uso de prótese é fundamental para a qualidade de vida do doente edêntulo pois, além de restabelecer a estética e a aparência, tem a capacidade de recuperar a função mastigatória perdida (Moldovan, 2018).

Aliado às suas vantagens, é importante considerar que prótese pode ser um reservatório de agentes infecciosos caso não seja higienizada e não esteja adequadamente adaptada, levando a adesão de *Candida albicans* e, consequente aparecimento de situações inflamatórias como a estomatite protética (Aslanimehr et al., 2017).

A utilização de uma prótese requer consultas de *follow-up* contínuas, um processo de reabilitação extenso, cuidados especiais ou adaptação da prótese bem como, a educação do doente para este tipo de tratamento (Cano-Gutiérrez, Borda, Arciniegas, & Borda, 2015).

É de extrema importância que se desenvolvam campanhas de prevenção e de educação para a utilização de próteses e, também que sejam aumentados os cuidados de saúde oral na população mais idosa (Cano-Gutiérrez et al., 2015).

3.4. Biofilme na prótese

Existem poucos estudos que tenham relacionado a saúde oral com a colonização bacteriana das próteses. Desta forma, torna-se essencial conhecer o microbioma oral de indivíduos portadores de prótese a fim de melhorar a sua saúde oral (Shi et al., 2016).

Pelo facto de o conhecimento sobre a composição bacteriana do biofilme na prótese ainda ser escasso são necessárias mais investigações sobre a microbiota que coloniza as próteses bem como, a dos dentes remanescentes (Sussewind et al., 2015).

O desenvolvimento de estratégias para o tratamento de doenças associadas à prótese pode ser melhorado com a identificação dos microrganismos e dos factores associados à doença (Shi et al., 2016).

O biofilme é capaz de se formar em materiais restauradores e está directamente relacionado com a energia de superfície do material e com elevadas rugosidades de superfície. Um dos exemplos, mais comuns, é a colonização bacteriana das próteses pois, há uma grande parte da população a fazer uso deste meio de substituição de dentes naturais (Busscher et al., 2010).

O biofilme forma-se na prótese à medida que as bactérias e os fungos, como a *Candida albicans*, se co-agregam e formam comunidades microbianas complexas (Donnell et al., 2015).

A composição e a dinâmica da comunidade microbiana da prótese são muito influenciadas pelo meio ambiente da cavidade oral que favorece a formação do biofilme, bem como, pelos factores que permitem que as bactérias interajam umas com as outras (Neppelenbroek, 2015).

Caso a prótese não seja higienizada de forma adequada pode promover a proliferação do biofilme. Esta situação ocorre frequentemente em pessoas mais idosas com má higiene oral e promove o crescimento de bactérias em meios anaeróbios que favorecem o aparecimento de agentes patogénicos, que em meio ácido levam a inflamações na mucosa e interferem na saúde geral do indivíduo (Donnell et al., 2015)

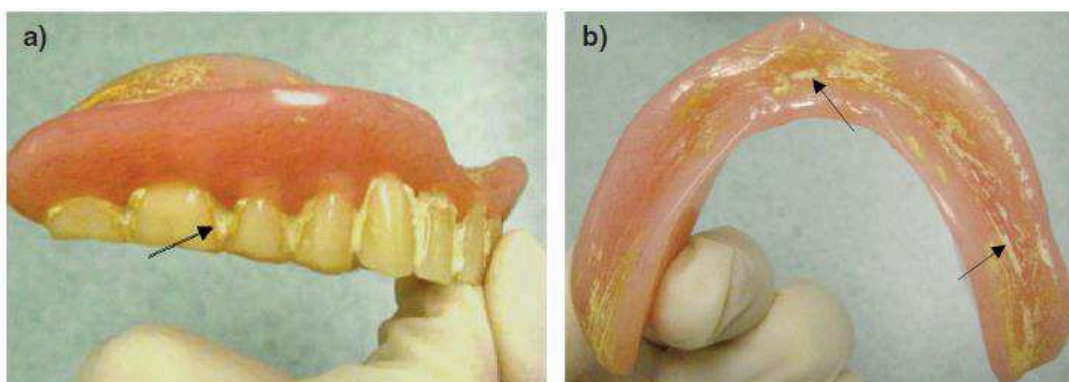


Fig.13 Presença de biofilme na prótese em resina acrílica (Sutula, Coulthwaite, Thomas, & Verran, 2012)

Existem vários factores que podem interferir com a formação do biofilme na prótese. Estes podem ser a xerostomia, a redução do fluxo salivar, o aumento da idade do portador da prótese, a colonização bacteriana e fúngica da prótese devido à falta de higienização da mesma, a ausência de dentes, bem como, a própria adaptação da prótese (Olms et al., 2018).

Um estudo de *Olms* e colaboradores, com doentes diagnosticados com hipossalivação e xerostomia demonstrou que, nos casos de má higiene oral a formação do biofilme foi mais rápida (Olms et al., 2018).

Um dos objectivos do estudo de *Shi*. e colaboradores, em 2016, foi investigar o biofilme formado nos dentes e nas próteses de doentes saudáveis e com estomatite. A estomatite protética é uma condição inflamatória das mucosas de portadores de prótese cuja etiologia está directamente relacionada com o fungo *Candida albicans* (Shi et al., 2016).

Quando a cavidade oral é colonizada por fungos é possível erradicá-los num curto período de tempo, no entanto, se estes colonizarem a superfície da prótese são muito mais difíceis de erradicar porque este tipo de microrganismos tem um grande poder de recidiva (Cierech et al., 2016).

As próteses removíveis são também conhecidas como reservatórios de agentes patogénicos respiratórios (Campbell et al., 2017)

Em 2016, um estudo mostrou que 2/3 dos doentes com uma incorrecta higiene da sua prótese apresentava um biofilme associado a bactérias envolvidas em patologias pulmonares (Shi et al., 2016).

A estomatite protética, o mau hálito e a presença de agentes patogénicos respiratórios aumentam o risco de infecções pulmonares e são uns dos grandes inconvenientes relacionados com a presença de prótese na cavidade oral (Coulthwaite & Verran, 2007).

As comunidades microbianas associadas à prótese e aos dentes remanescentes em doentes saudáveis ou com doenças associadas à prótese são muito semelhantes ao contrário do que acontece na microbiota de doentes com doença periodontal (Donnell et al., 2015).

As diferenças entre comunidades microbianas variam mais entre cada indivíduo do que propriamente entre as diferentes superfícies que colonizam. Ou seja, a variabilidade é interindividual (Shi et al., 2016).

Desta forma, os factores individuais são considerados mais preponderantes na formação do biofilme do que factores relacionados com a composição das superfícies a que aderem (Busscher et al., 2010).

As diferenças do microbioma na prótese residem no facto de os doentes com estomatite apresentarem uma maior diversidade de espécies bacterianas ao contrário do que acontece com doentes saudáveis portadores de prótese (Sachdeo et al., 2008).

Ainda no estudo de Shi e colaboradores, os microrganismos *Streptococcus* e *Actinomyces* foram predominantes em ambas as superfícies, dentes remanescentes e prótese dentária. Sendo prevalentes e abundantes, *Streptococcus* estão associados às próteses de doentes saudáveis. As espécies *Streptococcus sanguinis* e *Streptococcus gordonii* estão associadas a superfícies saudáveis e consequentemente relacionadas com o estado de saúde oral (Shi et al., 2016).

Pelo contrário, a espécie *Porphyromonas* está associada a estado de doença, mas mostrou ter uma associação a doentes saudáveis independentemente da superfície, tal como citado pelo *Projecto do Microbioma Humano* (Shi et al., 2016).

No entanto, existem outras espécies, tais como *Porphyromonas gingivalis*, *Porphyromonas catoniae* e *Porphyromonas endodontalis* que estão associadas a estados de doença e se encontram frequentemente presentes na dentição de doentes com estomatite protética (Olms et al., 2018).

O fungo *Candida* foi encontrado em 50% das amostras de doentes saudáveis e em 90% dos doentes com estomatite protética. Este fungo não foi encontrado somente em doentes com estomatite, mas, também em doentes saudáveis, tal como verificado em estudos similares prévios (Shi et al., 2016).

A espécie *Fusobacterium* mostrou ter níveis de colonização baixos nos doentes saudáveis. O microrganismo *Fusobacterium nucleatum subsp. animalis* teve uma colonização quase exclusiva das superfícies das próteses de doentes com estomatite protética (Shi et al., 2016).

Noutro estudo também não foram encontradas alterações significativas entre a microbiota de doentes saudáveis e doentes com estomatite protética. Verificou-se apenas que nos doentes com estomatite a quantidade de placa era superior e, existia uma diferença entre a microbiota presente na superfície interna da prótese e nos dentes naturais remanescentes (Donnell et al., 2015).

Na mucosa do palato dos portadores de prótese o desenvolvimento de *Candida* e *Streptococcus* está favorecido quando o meio oral está ácido (Marsh, Martin, Lewis & Williams, 2009).

A placa que se forma na prótese pode dar albergue a pequenas quantidades de bacilos gram-negativo, a bacilos gram-positivo como, *Actinomyces israeli* e também a cocos gram-positivo como *Staphylococcus aureus* (Donnell et al., 2015).

As bactérias predominantes na cavidade oral de doentes saudáveis ou estado de doença e, conhecidas como as maiores colonizadoras das superfícies da prótese são *Actinomyces*, *Streptococcus*, *Capnocytophaga*, *Neisseria* e *Veillonella* (Shi et al., 2016).

Tendo em conta a semelhante microbiota dos dentes remanescentes e da prótese da mesma pessoa, a manutenção da integridade dos dentes remanescentes pode comprometer o estado de saúde da mucosa de portadores de prótese e o contrário também acontece. Os dentes remanescentes são também essenciais na manutenção do suporte ósseo (Donnell et al., 2015).

O biofilme que coloniza a superfície interna da prótese apresenta bactérias pioneiras, aeróbias ou aeróbias facultativas, que consomem oxigénio e excretam dióxido de carbono proveniente do seu metabolismo. Por outro lado, as bactérias anaeróbias desenvolvem-se quando o pH desce e formam um ambiente anaeróbio que favorece o desenvolvimento de espécies com potencial patogénico, nomeadamente em próteses mal higienizadas (Olms et al., 2018).

A população idosa, com o avançar da idade vai perdendo dentes naturais e tem de recorrer ao uso de próteses para manter a aparência, a estética e a função. Por outro lado, a prótese, caso não seja higienizada, tem uma superfície abiótica, ou seja, não há formação da película salivar e contribui para a retenção e desenvolvimento do biofilme (Morse et al., 2018).

As próteses removíveis com estrutura metálica, apresentam algumas desvantagens nomeadamente, a tendência para a formação de biofilme porque existe uma fina camada de proteínas que se acumula e permite a colonização bacteriana. Nesta situação os antimicrobianos não são suficientes para a remoção do biofilme e é necessário que se faça a desinfecção da prótese (Campbell et al., 2017).

As próteses em resina acrílica apresentam algumas vantagens relativamente às que apresentam uma estrutura metálica porque são mais leves, mais baratas, mais estéticas devido à variedade de cores e translucidez, tem menor absorção de água e solubilidade, são facilmente reparadas, tem maior elasticidade e facilidade na produção (Campbell et al., 2017).

No entanto, também apresentam algumas desvantagens como, baixa resistência às forças de mastigação ao contrário do metal, condutividade térmica baixa, deterioração mais rápida que o metal, módulo de elasticidade baixo, são mais susceptíveis à fractura (Gupta et al., 2018).

Os médicos dentistas recorrem, muitas vezes, a estruturas chamadas ganchos para manterem a prótese removível no local pretendido. Essas localizações são propícias à acumulação de placa bacteriana, especialmente quando os pacientes não removem a prótese para a higienizar (Campbell et al., 2017).

As irregularidades presentes na prótese também contribuem para a proliferação bacteriana e consequente formação do biofilme que leva a inflamações na mucosa e ulcerações que provocam dor e desconforto. Esta situação pode ser revertida se o desenho da prótese tiver sido bem planeado (Moldovan, 2018).

Desta forma, é possível afirmar que a microbiota dos dentes remanescentes e da prótese do mesmo indivíduo se influenciam mutuamente e definem o estado de saúde oral do doente. Foi também possível concluir que as próteses e os dentes remanescentes de indivíduos saudáveis ou com estomatite albergam uma comunidade bacteriana muito semelhante (Shi et al., 2016).

Os factores individuais têm um papel muito mais importante na composição bacteriana das próteses e dos dentes do que propriamente o tipo de superfície que colonizam (Donnell et al., 2015).

Existem vários materiais tais como quartzo, sílica, vidros e borosílica que têm sido introduzidos em novos polímeros para melhorar as propriedades das próteses e que podem ser benéficos para a desinfecção de próteses em autoclave por serem resistentes ao calor (Campbell et al., 2017).

É necessário que se continuem a desenvolver estratégias de controlo e eliminação do biofilme na prótese, que mantenham a cavidade oral num estado de equilíbrio dinâmico capaz de proporcionar uma melhoria na saúde oral e sistémica (Neppelenbroek, 2015).

4. Patogenia

Os biofilmes estão relacionados com muitas infecções bacterianas que ocorrem em patologias do corpo humano. Estima-se que mais 80% dessas infecções estão relacionadas com o biofilme, visto que, estes são considerados uma das comunidades microbianas mais complexas do organismo (Bowen et al., 2017; Le et al., 2015).

O biofilme tem sido relacionado com situações de feridas crónicas, infecções do ouvido, infecções de próteses articulares, infecções urinárias, endocardite de válvulas cardíacas e patologias pulmonares crónicas (Kilian et al., 2016).

As doenças da cavidade oral têm um grande impacto na saúde geral do indivíduo porque interferem no sistema imune do hospedeiro e permitem que os microrganismos patogénicos da boca proliferem através da corrente sanguínea e das vias respiratórias e, disseminem para partes do corpo (Øilo & Bakken, 2015).

Os doentes com válvulas cardíacas ou que tiveram de ser sujeitos a algum transplante de órgão estão bastante vulneráveis a este tipo de situação. O mesmo acontece com a população mais idosa que tem um sistema imune mais debilitado, uma nutrição desadequada, um baixo fluxo salivar, deficiências de ferro, costuma ser polimedicado e tem uma destreza física inferior, que origina uma higiene oral incorrecta e, desta forma, permite o desenvolvimento de um biofilme patogénico (Øilo & Bakken, 2015).

A microbiota oral pode causar doenças sistémicas tais como, artrite reumatóide, cancro no cólon ou no recto, infecções respiratórias, meningites, abscessos cerebrais, pulmonares, do fígado ou do baço, doenças cardiovasculares, apendicite, diabetes, pneumonia e acidentes vasculares cerebrais (AVC) (Kilian et al., 2016).

Em 1977, a espécie *Pseudomonas aeruginosa* foi identificada na expectoração de doentes com fibrose quística. Hoje sabe-se que 80% dos doentes com fibrose quística apresentam uma infecção crónica por esta espécie e que a antibioterapia não cura este tipo de infecção mas alivia os sintomas desencadeados pela mesma (Le et al., 2015).

A hipótese da placa ecológica surgiu em 1980 para explicar a relação entre as doenças orais, o meio oral do hospedeiro e a microbiota oral e defende que as mudanças no meio ambiente conseguem alterar a competitividade das bactérias e desta forma, só algumas são capazes de se adaptar às condições do novo meio (Kilian et al., 2016).

Desta forma, as doenças infecciosas orais podem ser consequência das interações entre microrganismos, o hospedeiro, a dieta, a colonização microbiana do meio oral e o aparecimento do biofilme patogénico. Portanto, para conseguir evitar o aparecimento da doença é necessário inibir os agentes patogénicos bem como interferir nos factores do meio que influenciam o desenvolvimento destes agentes patogénicos (Le et al., 2015).

Um estudo demonstrou que o edentulismo se encontra associado a uma série de comorbidades, tais como, má nutrição, obesidade, alto risco para DPOC, doenças respiratórias, aumento de hospitalizações relacionadas com pneumonia, risco aumentado de cancro na cabeça e pescoço, doenças cardiovasculares bem como, o declínio da função cognitiva (Cano-Gutiérrez et al., 2015).

A maioria dos microrganismos presentes na cavidade oral são comensais, no entanto, se as condições de equilíbrio do meio se alterarem, os microrganismos patogénicos são capazes de se desenvolver, interferir no mecanismo de defesa do hospedeiro e provocar doenças na cavidade oral, tal como a gengivite, a periodontite, a pulpite, a cárie e a estomatite protética (Øilo & Bakken, 2015).

4.1. Cárie

Um exemplo de biofilme patogénico que deve ser considerado, é o que leva ao aparecimento da cárie dentária (Bowen et al., 2017).

Os hábitos da dieta do hospedeiro, as interações polimicrobiais e a virulência dos biofilmes dão origem a grandes mudanças no meio que estão directamente relacionadas com o processo dinâmico e patológico da cárie dentária (Bowen et al., 2017).

Para que a cárie se desenvolva, os microrganismos presentes no biofilme oral tem de ser resistentes a grandes variações do meio oral seja, ao nível da acidez e da hipóxia bem como, às variações de disponibilidade de nutrientes presentes na dieta (Le et al., 2015).

A cárie ocorre na presença de açúcares provenientes da alimentação. Um biofilme com bactérias cariogénicas, ao metabolizar os açúcares, produz ácidos que levam a uma descida do pH do meio, abaixo do valor de 5,5 e provocam uma desmineralização da

superfície do esmalte e/ou dentina através da dissolução dos cristais de hidroxiapatite (Øilo & Bakken, 2015).

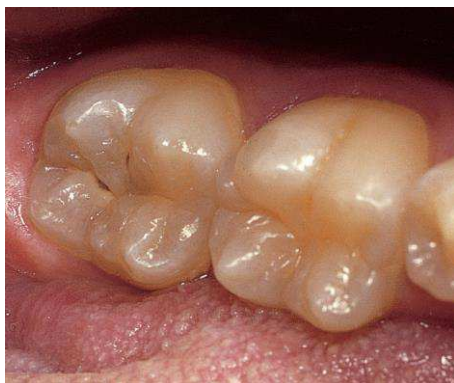


Fig.14 Lesão cariosa a olho-nu



Fig.15 Lesão cariosa (RX)

(Adaptado de Rawls, H; Shen, C.; Anusavice, K., 2013)

Os agentes patogénicos produzidos pela matriz do biofilme, juntamente com outras bactérias acidúricas competem com bactérias comensais e quando as condições são favoráveis tornam o meio mais ácido e são capazes de causar desmineralização na superfície do esmalte e da dentina (Bowen et al., 2017).

As variações de pH provocam ciclos de desmineralização/remineralização. As bactérias comensais dos biofilmes saudáveis apresentam uma baixa tolerância à acidez e podem ser espécies de *Actinomyces*, *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus sanguis* e *Streptococcus oralis*. Por outro lado, as bactérias cariogénicas *Streptococcus sobrinus* e *Streptococcus mutans* apresentam uma grande tolerância à acidez e estão associadas ao aparecimento de cáries, bem como, gengivite e periodontite (Le et al., 2015).

Para levar à formação de cáries, *Streptococcus mutans* tem de interagir com outros microrganismos e, através de um esforço polimicrobial dinâmico, permite a organização do biofilme cariogénico (Le et al., 2015).

A capacidade de utilização de uma variedade de hidratos de carbono para a produção de ácidos e matriz polimérica extracelular, bem como, a capacidade de resistir ao stress e a habilidade de retirar DNA ao meio ambiente, torna o *Streptococcus mutans*, um agente patogénico oportunista eficiente (Bowen et al., 2017).

Além disso, tem a capacidade de alterar o meio em que se encontra através da utilização dos açúcares e unir-se à matriz polimérica insolúvel, sendo por isso, fundamental no processo cariogénico. É capaz de dar estabilidade aos meios ácidos e de

tornar o biofilme mais difícil de eliminar porque permite o crescimento de outras bactérias acidogénicas/acidúricas e leva a morte das bactérias comensais (Bowen et al., 2017).

Algumas interacções microbianas podem ser sinérgicas e contribuir para o desenvolvimento da cárie enquanto outras são benéficas e capazes de interferir nos agentes patogénicos da cárie. A higiene oral deficiente, bem como, o consumo de açúcares provenientes da dieta do hospedeiro, podem interferir no balanço entre os agentes patogénicos oportunistas e comensais e, deste modo, contribuir para a virulência do biofilme dentário (Le et al., 2015).

Os açúcares provenientes da dieta são capazes de promover a alteração da estrutura do biofilme, metabolizar os hidratos de carbono, promover a acidificação do meio, levar a mudanças ecológicas em diferentes espécies e conduzir a lesões no tecido dentário mineralizado, nomeadamente, a cárie dentária (Le et al., 2015).

A sacarose é capaz de formar a matriz polimérica extracelular porque os microrganismos *Streptococcus mutans* são capazes de a converter em glucanos extracelulares insolúveis que intensificam a adesão e coesão das bactérias (Bowen et al., 2017).

Pelo facto de promover o desenvolvimento da matriz polimérica extracelular e levar à proliferação de uma microbiota resistente aos ácidos, a sacarose foi considerada o componente mais cariogénico das hexoses (glicose e frutose) (Bowen et al., 2017).

Quando a dieta do hospedeiro não é rica em hidratos de carbono, nomeadamente sacarose, as bactérias comensais têm uma grande vantagem em relação aos agentes cariogénicos pois aderem melhor à superfície dos dentes e conseguem crescer melhor que *Streptococcus mutans* e outras espécies acidúricas. A associação inversa entre bactérias comensais e *Streptococcus mutans* também acontece e é responsável pelo controlo de desenvolvimento de bactérias cariogénicas (Kilian et al., 2016).

Através da produção de componentes alcalinos é possível manter o pH próximo da neutralidade, desta forma as bactérias comensais conseguem superar a descida do pH que seria ideal para o crescimento de *Streptococcus mutans* e outros organismos que toleram a acidez do meio (Bowen et al., 2017).

Os agentes cariogénicos apresentam alguma tolerância ao stress e, esta situação está directamente relacionada com o desenvolvimento de cáries. Desta forma, as interacções competitivas entre bactérias comensais bem como, o influxo de hidratos de

carbono da dieta lida com um metabolismo variável que é capaz de levar a diferentes situações de stress (Øilo & Bakken, 2015).

Quando se dá uma descida abrupta de pH, devido a ingestão de hidratos de carbono, bebidas ácidas ou ingestão de açúcares, a maioria das bactérias comensais saudáveis não são capazes de sobreviver. A um pH abaixo de 5,5 deixam de crescer e a partir de um pH de 4,0 não sobrevivem (Bowen et al., 2017).

Por outro lado, através de várias estratégias adaptativas as bactérias acidúricas, *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus* conseguem lidar com a descida do pH. Estas bactérias cooperam umas com as outras e aumentam a acidez do biofilme tornando-o mais cariogénico, hipóxico, rico em hidratos de carbono e capaz de permitir a colonização por microrganismos oportunistas que potenciam o aparecimento da cárie (Le et al., 2015).

Estas bactérias podem ser *Streptococcus não mutans*, *Actinomyces*, *Lactobacilli*, *Bifidobacteria* e espécies de *Scardovia* (Bowen et al., 2017).

Normalmente a fonte de nutrição das bactérias são os hidratos de carbono, no entanto, *Veillonella*, bactéria anaeróbica gram-negativo utiliza o lactato proveniente do ácido láctico de *Streptococcus*. Desta forma, estas duas bactérias agregam-se e promovem o desenvolvimento da cárie dentária (Le et al., 2015).

Na presença de açúcares, *Candida albicans* é capaz de se ligar a *Streptococcus mutans* e tem a capacidade de colonizar as superfícies dos dentes. Através desta interacção é possível produzir grandes quantidades de glucanos essenciais na formação da matriz de SPE e, consequentemente, na formação do biofilme (Bowen et al., 2017).

Apesar da capacidade tampão da saliva e do meio oral alcalino, a cárie ocorre devido à acidificação do biofilme. Isto acontece porque a saliva não tem acesso às camadas mais profundas do biofilme dentário onde se encontram os açúcares provenientes da dieta (Kilian et al., 2016).

Se o biofilme formado na cavidade oral não for eliminado mecanicamente através de uma higienização regular, este é passível de se desenvolver, aumentar de espessura, diminuir o pH e o oxigénio e, permitir o desenvolvimento de bactérias cariogénicas tais como, *Streptococcus mutans*, *Actinomyces spp.*, *Veillonella spp.* e *Lactobacillus spp.* Todos estes processos conduzirão ao aparecimento de lesões de cárie (Øilo & Bakken, 2015).

4.2. Pulpite

Se a cárie não for tratada, e se continuarem a existir condições no meio que favoreçam o seu desenvolvimento, as bactérias presentes dissolvem o conteúdo mineral do dente até atingirem a polpa. Quando isto acontece, dá-se uma inflamação local, a que damos o nome de pulpite (Øilo & Bakken, 2015).

4.3. Gengivite

No caso da gengivite e da periodontite, existe uma pequena porção de agentes patogénicos que é capaz de interferir com o sistema imune do hospedeiro, alterar a microbiota e causar doenças inflamatórias (Kilian et al., 2016).



Fig.16 Gengivite na arcada superior (Adaptado de Scully, 2013) Fig.17 Gengivite na arcada inferior

Quanto aos tecidos moles, o biofilme pode ser responsável pelo aparecimento da gengivite, já que existe acumulação de placa, o biofilme é mais espesso, e o fluido crevicular, conhecido pelas suas propriedades antimicrobianas, já não é capaz de controlar esta inflamação dos tecidos periodontais (Øilo & Bakken, 2015).

4.4. Periodontite

A periodontite é uma patologia dos tecidos periodontais caracterizada pela proliferação das bactérias anaeróbias do biofilme no sulco gengival (Øilo & Bakken, 2015)

Por si só, o biofilme não é capaz de provocar periodontite. É necessário que existam mediadores do sistema de defesa do hospedeiro que alteram as respostas e levam a nível de inflamação descontrolado (Kilian et al., 2016).

O processo inflamatório induz um aumento da produção de fluido crevicular rico em proteínas, potencia a hemorragia e, conseqüentemente o desenvolvimento de bactérias anaeróbias e bactérias dependentes de proteínas (Kilian et al., 2016).



Fig.18 Doença periodontal



Fig 19 Periodontite (RX)

(Adaptado de Pegoraro, L.; Valle, A.; Araujo, C.; Bonfante, 2001)

As bactérias envolvidas na periodontite são *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythi* e desencadeiam uma resposta inflamatória que levam a estados de edema e hemorragia (Øilo & Bakken, 2015).

As bactérias mais comumente encontradas nos casos de periodontite são *Porphyromonas gingivalis* e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Este tipo de microbiota é capaz de levar à destruição do tecido periodontal e perda de inserção (Kilian et al., 2016).

O risco de contrair periodontite varia entre os indivíduos e depende de factores genéticos, tabaco, álcool, drogas, stress e doenças metabólicas (Kilian et al., 2016).

No caso de ser um doente diabético, o processo inflamatório é muito mais exagerado e lida com uma maior destruição dos tecidos de suporte periodontal (Wade, 2012).

Está comprovado que a periodontite severa pode levar ao aparecimento de diabetes tipo II e influencia os valores de glicémia (Kilian et al., 2016).

A doença periodontal não pode ser controlada apenas com higiene mecânica, mas, se assim for, leva à perda de osso alveolar e conseqüentemente, à perda de peças dentárias (Øilo & Bakken, 2015).

4.5. *Candida albicans* – estomatite protética

A estomatite protética é uma inflamação oral dos portadores de próteses parciais ou totais, de cor avermelhada, por debaixo da mucosa que contacta com a prótese e mais frequentemente associadas à prótese superior. Esta inflamação pode acontecer devido à formação de biofilmes fúngicos (Aslanimehr et al., 2017; Susewind et al., 2015).

A *Candida albicans* está intimamente relacionada com o aparecimento de estomatite protética, ainda que se saiba que este é um processo multifatorial e este não é singular para o seu aparecimento. O fungo tem a capacidade de se aderir as superfícies resinosas das bases protéticas e é conhecido como sendo o mais prevalente na cavidade oral. Além de ser o fungo mais predominante na boca *Candida albicans* tem a capacidade de se aderir aos tecidos moles e duros da cavidade oral e formar estruturas complexas de biofilme (Donnell et al., 2015; Susewind et al., 2015).

A *Candida albicans* tem um papel importante no aparecimento e progressão da estomatite protética já que, se encontra presente em 90% dos casos. Os materiais dentários utilizados também influenciam a adesão da *Candida* e a proliferação da estomatite (Susewind et al., 2015).

A estomatite protética é uma inflamação na mucosa oral que pode ser classificada numa escala elaborada por *Newton*. Segundo *Newton*, esta pode ser classificada em três tipos: o tipo 1 é caracterizado por uma pequena inflamação localizada ou pequena hiperémia; o tipo 2 envolve uma parte ou cobre totalmente a superfície da mucosa que contacta com a prótese e o tipo 3 é uma combinação do tipo 1 e 2 com hiperplasia inflamatória e envolve as cristas alveolares e a linha média do palato duro (Aslanimehr et al., 2017; Donnell et al., 2015).

Segundo estudos epidemiológicos, a percentagem de pacientes portadores de próteses removíveis que apresentam estomatite varie entre 11% e 67%. Esta percentagem mostra a importância das estratégias de tratamento que possam vir a reduzir a prevalência desta patologia, tão presente em portadores de prótese dentária (Susewind et al., 2015).

Tipo	Descrição	Frequência
1	Inflamação simples e localizada ou hiperémia localizada	Lesão inicial
2	Tipo eritematoso ou generalizado, eritema difuso que envolve uma parte ou toda a mucosa que assenta na prótese	Tipo comum
3	Tipo granuloso (hiperplasia inflamatória papilar) que envolve parte central do palato duro e o rebordo alveolar	Incomum

Fig. 20. Classificação da estomatite protética segundo *Newton*
(Adaptado de Scully, 2013)

Sabemos que a presença de *Candida albicans* na cavidade oral tem tendência a aumentar com a idade e que costuma ser mais prevalente no sexo masculino do que no feminino (Olms et al., 2018).

As pessoas idosas têm uma maior tendência para desenvolver esta patologia porque geralmente apresentam um estado de saúde geral mais débil, associado a terapias com corticosteróides ou com estados de imunossupressão, bem como à ausência de uma higiene oral adequada (Susewind et al., 2015).

A má higiene oral é considerada um factor etiológico preponderante no aparecimento da estomatite protética (Susewind et al., 2015).

Desta forma, compreende-se a importância de uma frequente e adequada higiene oral para reduzir a possibilidade do desenvolvimento de hifas de *Candida* no biofilme dos portadores de prótese (Koch et al., 2013).

A presença desta levedura é considerada um importante factor para o aparecimento desta doença, no entanto, existem outros factores como trauma, falta de adaptação da prótese, consumo de tabaco, baixo fluxo salivar, tratamento com antibióticos, infecções microbianas que também podem desencadear o aparecimento desta patologia (Donnell et al., 2015).

A estomatite protética tem de ser considerada uma patologia polimicrobial cuja patogenia advém das interacções que ocorrem entre bactérias e fungos presentes na estrutura protética (Donnell et al., 2015).

A progressão da estomatite protética não é somente uma inflamação fúngica, também foi demonstrado que as bactérias têm um papel importante no desenrolar desta doença. A levedura *Candida* continua a ser considerada como o factor etiológico preponderante no aparecimento da estomatite protética, no entanto, as bactérias também tem um papel importante visto que, a superfície da prótese é passível de ser colonizada por 10^{11} micróbios (Susewind et al., 2015; Donnell et al., 2015).

O microbioma dos doentes que sofrem de estomatite protética tem variadas quantidades de bactérias e este facto, parece estar associado ao facto de estes doentes apresentarem dentes naturais. A estomatite protética é uma patologia invasiva e, em doentes dentados, contrariamente aos edêntulos, mostrou uma inflamação mais severa provavelmente devido a presença de dentes naturais que exacerbaram esta patologia (Donnell et al., 2015).

A simultânea presença de *C. albicans* e *C. glabrata* também foi superior em doentes com estomatite protética. Os casos mais severos de estomatite protética podem estar associados a co-agregação de *C. albicans* e *C. glabrata* porque estas formam um biofilme mais invasivo e patogénico (Susewind et al., 2015).

Por outro lado, foi demonstrado que *Lactobacillus* e *Candida* têm um comportamento antagonista e sugerem que os microrganismos *Lactobacillus* inibem o crescimento de *Candida* através da sua produção de peróxido de hidrogénio e modulam a resposta imune do hospedeiro através de citoquinas promovendo uma actividade anti-*Candida* (Donnell et al., 2015).

Uma revisão verificou um sinergismo entre *Candida* e *Streptococci* orais, nomeadamente a alocação de nutrientes de *Streptococci* para *Candida*. A capacidade de se co-agregar a *C. albicans* pertence ao grupo *Streptococcus gordinii* (Susewind et al., 2015).

Essa mesma revisão investigou a formação e a morfologia de *C. albicans* nos biofilmes da superfície de materiais usados para bases protéticas. O aumento de virulência e de patogenicidade da *Candida* está relacionado com a transformação de blastóporos em hifa (Susewind et al., 2015).

Desta forma, relacionaram a presença de altos níveis de hifa na saliva e no palato com doentes com estomatite protética associada a *C. albicans* e a hifa *Candida albicans* preferiu substratos hidrofóbicos em vez de hidrofílicos (Susewind et al., 2015).

Através de estudos foi possível comprovar que a quantidade de *C. albicans* é superior na parte mucosa da prótese do que no tecido mucoso por debaixo da prótese (Susewind et al., 2015).

Assim sendo, a candidíase oral associada à prótese afecta 60% dos portadores de prótese e manifesta-se por uma inflamação nos tecidos do palato que se encontram em contacto com a prótese. Esta patologia está relacionada com a presença do fungo *Candida albicans* associada a factores como a falta de higiene oral e da prótese, diabetes, tabaco e sistema imunitário deficiente (Morse et al., 2018)

A levedura *Candida* tem sido considerada como o agente causador da estomatite protética, no entanto, com o desenrolar dos tempos percebeu-se a interação das bactérias e de *Candida* nos biofilmes e a possível influencia das bactérias no desenvolvimento, patogenia e controle do biofilme (Morse et al., 2018).

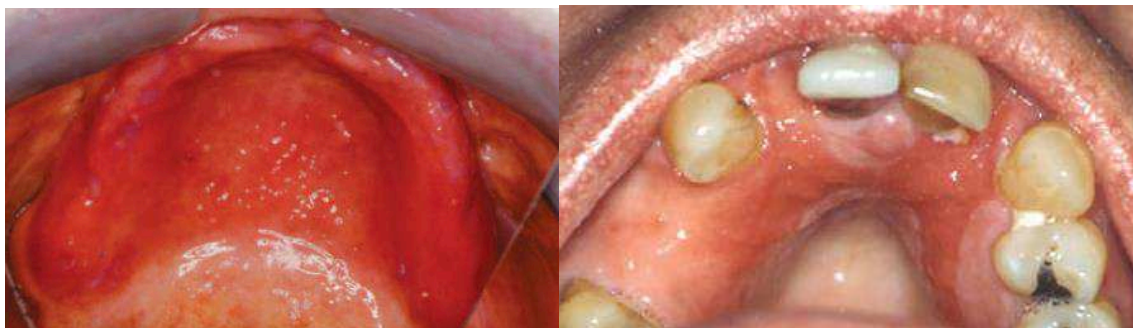


Fig.21 Estomatite protética em portadores de prótese total ou parcial

(Adaptado de Scully, 2013;)Basker, R.;Davenport,J.;Thomason, 2011)

Em resumo e, tendo em conta que os mais idosos e imunocomprometidos dão bastante uso às próteses acrílicas é necessário investigar a adesão e proliferação de *C. albicans*, mas também, a sua transformação em hifa visto que, o tipo de superfície influencia essa mesma transformação (Susewind et al., 2015).

4.6. Pneumonia por aspiração

Muitas vezes são identificadas espécies bacterianas orais, responsáveis pela ocorrência de infecções respiratórias devido à aspiração destes microrganismos através da orofaringe (Øilo & Bakken, 2015).

Foi também descoberto que a presença de disfagia em doentes edêntulos está relacionada com a aspiração do biofilme da prótese para a laringe, orofaringe e pulmões e, consequente pneumonia por aspiração (Susewind et al., 2015).

O acto de dormir com a prótese é um hábito comum em mais de 50% dos portadores de prótese e está associado a um maior risco de pneumonia, especialmente no caso da população idosa (Susewind et al., 2015).

As bactérias conhecidas por causarem graves doenças respiratórias são *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae B*, *Streptococcus pyogenes* e *Moraxella catarrhalis* (Olms et al., 2018).

5. Controlo do biofilme na prótese

A superfície interna da prótese permite a colonização bacteriana e leva ao aparecimento do biofilme na prótese, que apresenta diferentes bactérias e fungos que vivem em comunidade na sua superfície (Olms et al., 2018).

É imperioso que este biofilme seja removido através de práticas de higiene diária da prótese. Estas permitem a manutenção da estética, a ausência de mau odor, reduzem o risco para o aparecimento de infecções oportunistas e mantêm a saúde oral dos portadores de prótese (Arruda et al., 2018; Neppelenbroek, 2015).

O Médico Dentista deve ensinar e motivar o doente para a higiene oral, especialmente a higiene das mucosas e da prótese em si. O doente deve manter uma boa higiene oral através da utilização de métodos eficazes no controlo da formação do biofilme (Arruda et al., 2018).

Desta forma, e para manter a saúde oral, a higiene da prótese pode ser feita através de métodos mecânicos, químicos, combinação dos dois últimos e por radiação de micro-ondas ou fototerapia (Valentini-Mioso, Maske, Cenci, Boscato, & Pereira-Cenci, 2018).

É aconselhada uma combinação de métodos mecânicos e químicos porque a sua acção bacteriana reduz a acumulação do biofilme de forma mais eficaz e remove as manchas da prótese (Arruda et al., 2018; Valentini-Mioso et al., 2018).

Tendo em conta, as *guidelines* baseadas na evidência do jornal da ADA, a prática de higiene deve incluir um método mecânico, escovando com uma escova não abrasiva e pasta dentífrica ou sabão. Imediatamente depois, as próteses devem ser imersas numa solução desinfetante e, no caso de serem guardadas devem ficar em água. Antes de serem reinseridas em boca devem ser escovadas. Apesar de a evidência ser escassa, também é aconselhado higienizar com ultrassons, uma vez por ano, na consulta de Medicina Dentária para diminuir a acumulação do biofilme (Felton et al., 2011).

Por vezes, os portadores de prótese, principalmente os mais idosos, apresentam uma higiene deficiente e, portanto, o biofilme que se mantém na prótese pode vir a desencadear patologias locais e sistémicas (Valentini-Mioso et al., 2018).

Tendo em conta que a higiene da prótese feita por um doente mais idoso pode reduzir o biofilme, mas não é completamente eficaz devido ao menor grau de destreza, é

necessário adicionar um método químico que possibilite a completa remoção do biofilme (Valentini-Mioso et al., 2018) .

A resina acrílica da base protética apresenta uma superfície rugosa e porosa que permite a invasão e adesão das espécies de *Candida*. Este fungos é capaz de se incorporar nas microporosidades da resina e criar uma barreira de protecção contra o efeito de limpeza da saliva, bem como, contra a higienização mecânica (Ligia et al., 2017).

A estomatite protética afecta frequentemente os portadores de prótese e o seu tratamento é feito com antifúngico como a nistatina e o fluconazol, no entanto, devido à resistência de *C. albicans* a este tipo de tratamento torna-se complicado travar a propagação desta infecção fúngica (Machado-gonçalves, Tavares-santos, Santos-costa, & Soares-diniz, 2018).

Tendo em conta que o biofilme da prótese é formado por estruturas bastante resistentes, e que o tratamento convencional não costuma ser eficaz na descontaminação das superfícies internas da prótese, recorre-se a tratamentos alternativos como agentes desinfectantes, para eliminar este fungo da cavidade oral (Ligia et al., 2017).

Além disto, agentes antifúngicos tópicos apresentam algumas desvantagens. Estas incluem mau sabor, náusea, vômitos, dor epigástrica, inflamação recorrente, reacções alérgicas, nefrotoxicidade e hepatotoxicidade (Ligia et al., 2017).

A presença de bactérias no biofilme, nomeadamente *Streptococcus mutans*, tem sido a maior causa para a falha dos materiais restauradores (Garcia et al., 2017; Thomas et al., 2018).

Por essa mesma razão, existe um interesse emergente no desenvolvimento de materiais restauradores com propriedades antimicrobianas porque houve um aumento da resistência dos microrganismos orais aos antibióticos, pelo facto destes últimos serem bastante utilizados para no tratamento de infecções da cavidade oral (Khan, Ahamed, Alhadlaq, Musarrat, & Al-Khedhairi, 2013; Thomas et al., 2018).

É então necessário resolver este problema de saúde pública e encontrar novos materiais biocidas que sejam eficazes, biocompatíveis e tenham um preço acessível à população (Khan et al., 2013; Yue et al., 2018).

5.1. Controlo mecânico

O controlo mecânico pode ser realizado através de escovagem com recurso a sabões, pastas dentífricas ou banho de ultrassons (Papadiochou & Polyzois, 2018; Zoccolotti et al., 2018).

A escovagem é o método mais utilizado, tem um preço acessível, é fácil de usar e mostra uma boa eficácia. É capaz de desorganizar, desfazer o biofilme e diminuir a colonização bacteriana, no entanto, se se tratar de uma escovagem agressiva pode alterar a superfície da resina acrílica, criar porosidades na sua superfície e aumentar a colonização bacteriana (Papadiochou & Polyzois, 2018; Shuman, 2018).

As pastas dentífricas, os elixires e os colutórios usados na higiene oral apresentam componentes antimicrobianos como, enzimas, óleos essenciais, compostos de amónio quaternário, iões metálicos, extractos de planta, surfactantes e fenóis que inibem o desenvolvimento bacteriano na cavidade oral (Khan et al., 2013).

Os dispositivos de ultrassons também podem ser utilizados na desinfecção da prótese e combinam o método mecânico com utilização de um agente químico (Papadiochou & Polyzois, 2018)



Fig.22 Controlo mecânico do biofilme na prótese



Fig.23 Identificação de biofilme com corante

5.2. Controlo químico

O controlo químico pode ser realizado através do uso de soluções desinfectantes que são eficazes na inibição ou eliminação microrganismos patogénicos e, por essa razão, são bastante recomendadas (Papadiochou & Polyzois, 2018; Zoccolotti et al., 2018).

A solução desinfectante ideal deve ser eficaz na remoção de resíduos orgânicos e inorgânicos, ser fácil de usar, ter uma acção bactericida e fungicida, ter um preço acessível, ser compatível com os materiais utilizados no fabrico da prótese, deve ser de curta duração, não alterar a cor, não ser citotóxica e não alterar ou degradar as propriedades da superfície da prótese (Felton et al., 2011).

É necessário avaliar os efeitos adversos da solução desinfectante na resina acrílica para que esta possa ser utilizada. Os parâmetros avaliados costumam ser a rugosidade de superfície, a força de flexão e a estabilidade da cor visto que estes influenciam a formação do biofilme, estética e durabilidade da prótese (Arruda et al., 2018).

A rugosidade de superfície é uma propriedade física das resinas acrílicas muito importante porque o seu aumento favorece a adesão e o crescimento do biofilme (Andrade & Macedo, 2017; Peracini et al., 2016).

É fundamental tentar encontrar a solução com a menor concentração de agente desinfectante, que seja capaz de não interferir nas propriedades físico-químicas da resina acrílica e que se mantenha eficaz no controlo do desenvolvimento do biofilme (Arruda et al., 2018).

A clorohexidina, digluconato de clorohexidina, o álcool, glutaraldeído, sabões antissépticos, peróxidos alcalinos, bicarbonato e o hipoclorito de sódio são exemplos de agentes químicos utilizados para a eliminação do biofilme na prótese (Gondim et al., 2018; Valentini-Mioso et al., 2018; Zoccolotti et al., 2018).

- Clorohexidina (CHX)

A solução de digluconato de clorohexidina a 0.12% está indicada para uso semanal no controlo do biofilme da prótese. É eficaz, simples, barata e de utilização segura (Valentini-Mioso et al., 2018).

Esta solução inibe a formação do biofilme devido à sua alta substantividade, ou seja, esta propriedade permite à CHX permanecer no substrato e ter efeito antimicrobiano prolongado. Apresenta desvantagens como a eventual descoloração dos dentes artificiais e da base protética, desconforto e sensação de ardor, mancha os dentes naturais e aumenta o cálculo supragengival (Valentini-Mioso et al., 2018).

Analizando a literatura, observa-se que o uso de soluções de digluconato de clorohexidina em combinação com a escovagem mecânica é efectiva no controlo da

colonização bacteriana da prótese. Verifica-se uma diminuição na quantidade de bactérias *Streptococcus mutans*, que são conhecidas pelo seu sinergismo com *C. albicans*, e, por isso, inibem também o crescimento deste fungo (Valentini-Mioso et al., 2018).

A redução da capacidade de adesão dos microrganismos e a inactivação do biofilme faz da clorohexidina um bom desinfectante, no entanto, o uso desta solução pode manchar a prótese (Zoccolotti et al., 2018).

- Álcool

O álcool interfere numa propriedade física da prótese, a resistência à flexão, e, por essa razão não costuma ser utilizado (Zoccolotti et al., 2018).

- Glutaraldeído

A acção bactericida do glutaraldeído é conhecida, no entanto, não é recomendado para a desinfecção de próteses porque causa irritação na mucosa oral pelo facto de se impregnar nas porosidades presentes na superfície da prótese (Zoccolotti et al., 2018).

- Peróxidos alcalinos

Os peróxidos alcalinos presentes nas pastilhas *COREGA* de higienização da prótese são muito usados porque demonstram eficácia no controlo do biofilme e no controlo da proliferação de *Candida*. Podem ser usados em curto período de tempo, 3 a 20 minutos ou longo período de tempo, 8 horas ou mais (Andrade & Macedo, 2017; Peracini et al., 2016).

Estudos demonstraram que o peróxido alcalino não foi eficaz quando usado como método isolado, sendo necessário um longo período de imersão para aumentar a sua eficácia. O agente deve ser utilizado como meio auxiliar ao método de escovagem da prótese (Andrade & Macedo, 2017; Peracini et al., 2016).

O peróxido alcalino é um constituído por um antioxidante, um redutor da tensão superficial e agentes quelantes. Pode ser encontrado em pó ou em pastilhas efervescentes que em contacto com água, libertam peróxido de hidrogénio. Apresenta uma actividade intermédia contra *Candida* através do lauril sulfato de sódio combinado com perborato de sódio ou bicarbonato de sódio; tem uma actividade intermédia contra a formação do biofilme e não apresenta alterações significativas das propriedades das resinas acrílicas foto-polimerizadas (Andrade & Macedo, 2017; Peracini et al., 2016).

Várias soluções de peróxido alcalino mostraram ser eficazes no combate a *Candida*. Entre elas estão *Clinsoddent*, *Fittydent*, *NitrAdine Medical Interporous* e *Dentural*, no entanto, outras não foram tao eficazes, tais como, *Bonyplus*, *Corega tabs*, *Efferdent*, *Polident* e *Steradent* (Andrade & Macedo, 2017; Peracini et al., 2016).

O tempo de duração do contacto da solução com a prótese pode influenciar estes resultados e, portanto, acção contra *Candida* mostrou ser mais eficaz em tempos de imersão superiores. As suas propriedades antimicrobianas também mostraram ser superiores (Andrade & Macedo, 2017; Peracini et al., 2016).

A imersão em peróxido alcalino, como por exemplo, as cápsulas de *Corega*, induz a alteração da cor na resina acrílica, no entanto, essa alteração é considerada clinicamente imperceptível em períodos curtos, mas, por outro lado, é significativa quando os períodos de imersão são longos (Andrade & Macedo, 2017; Peracini et al., 2016).

Em relação à rugosidade de superfície, não foram encontradas alterações na solução de peróxido alcalino (*corega tabs*) em imersões de curta e longa duração, mas, em soluções de peróxido alcalino com enzimas neutras e perborato de sódio 3,8% em imersões de curta duração foram verificadas alterações (Andrade & Macedo, 2017; Peracini et al., 2016).

A resistência à flexão (propriedade mecânica) das resinas acrílicas fotopolimerizadas, devido à utilização de desinfectantes, costuma diminuir em imersões de longa duração. No caso de imersões de curta duração de peróxidos, esta propriedade mantém-se inalterada (Andrade & Macedo, 2017; Peracini et al., 2016).

O facto de os peróxidos apresentarem uma acção branqueadora também influencia a diminuição da força de flexão (Andrade & Macedo, 2017; Peracini et al., 2016).

- Sabões Antissépticos

A percentagem de microrganismos presentes na pele que são susceptíveis à remoção através da utilização de sabões antissépticos encontra-se entre 65% e 85% (Zoccolotti et al., 2018).

Considerando três sabões desinfectantes, *Dettol*, *Protex* e *Lifebuoy*, todos foram eficazes na redução do biofilme, não alteraram os valores da rugosidade e não mostraram citotoxicidade. No entanto, *Lifebuoy* demonstrou ter algumas alterações na cor e na rigidez da prótese (Zoccolotti et al., 2018).

- Hipoclorito de sódio

Pelo facto de inibir a formação do cálculo e inactivar a formação do biofilme, o hipoclorito é bastante utilizado na desinfecção de próteses, no entanto, pode ter efeitos indesejáveis como a descoloração da prótese, corrosão das partes metálicas da prótese e efeitos citotóxicos moderados na mucosa oral (Zoccolotti et al., 2018).

Os seus efeitos adversos dependem do tempo de imersão, da concentração e do tempo de utilização da solução desinfectante. O hipoclorito pode ser usado em curto período de tempo, 3 a 20 minutos ou longo período de tempo, 8 horas ou mais (Andrade & Macedo, 2017; Peracini et al., 2016).

Para controlar o desenvolvimento do biofilme na prótese é recomendado o uso de uma solução de hipoclorito de sódio 0,5%, uma vez por semana (Valentini-Mioso et al., 2018).

O hipoclorito de sódio deve ser utilizado em imersões de curto período de tempo e concentrações diluídas, normalmente de 0,5% e 1%, que são eficazes na remoção do biofilme e, por isso, é comumente utilizado como desinfectante de prótese (Arruda et al., 2018).

A solução a 0,5% mostrou ser eficaz em períodos de 20 minutos ou 8 horas. Se o hipoclorito de sódio a 0,5% estiver em imersões curtas de 20 minutos não se verificam alterações na cor, na resistência à flexão e na rugosidade de superfície. No entanto, se as imersões forem de 8 horas estas alterações já se verificam (Arruda et al., 2018).

A solução de 0,1% de hipoclorito de sódio mostrou valores intermédios na redução do biofilme, e mostrou ser mais eficaz a 0,2%. No entanto, nenhuma delas mostrou alterações na cor, resistência à flexão e rugosidade de superfície quando utilizadas em imersões de curta duração, de 20 minutos (Arruda et al., 2018).

Já a solução a 1% mostrou ser eficaz, contudo, apresenta efeitos adversos na resina acrílica em imersões de curto e longo tempo (Arruda et al., 2018).

A concentração de 0,25% e 0,5% de hipoclorito de sódio mostrou ter uma menor percentagem de biofilme quanto comparada a 10% de *Ricinus communis* (Arruda et al., 2018).

As imersões de curta duração de 0,25%, 0,5%, 1%, 2% e 5% de hipoclorito de sódio mostraram ser mais eficazes que os peróxidos alcalinos (*corega tabs*) na remoção

do biofilme da prótese, na inibição de *Candida* e em termos de propriedades antimicrobianas (Andrade & Macedo, 2017; Peracini et al., 2016).

Foi demonstrado que o uso de hipoclorito de sódio em combinação com a escovagem mecânica é efectivo no controlo da colonização bacteriana das superfícies protéticas. Esta combinação diminui a quantidade de bactérias *Streptococcus mutans*, que são conhecidas pelo seu sinergismo com *Candida albicans*, e inibe o crescimento deste fungo (Valentini-Mioso et al., 2018).

A solução considerada *gold standard* na literatura, para a desinfecção de próteses, é o hipoclorito de sódio porque tem propriedades bactericidas e fungicidas e é capaz de remover as manchas da prótese através da dissolução da estrutura polimérica. Apresenta desvantagens como cheiro intenso, dissolução dos tecidos moles, aumento da rugosidade das superfícies acrílicas e corrosão das estruturas metálicas da prótese (Valentini-Mioso et al., 2018).

O hipoclorito é considerado um bom desinfectante, é barato, fácil de usar e seguro, no entanto, é capaz de provocar alterações nas próteses com estrutura metálica, alterar a cor e aumentar a rugosidade da superfície (Shuman, 2018).

5.3. Introdução de nanopartículas

Tendo em conta que a imersão das próteses em soluções desinfectantes mostrou ter consequências negativas ao nível das propriedades mecânicas e químicas da base protética, tornou-se necessário desenvolver métodos e desinfectantes alternativos para a adequada higienização da prótese (Gondim et al., 2018).

Além das soluções desinfectantes, existe uma grande variedade de antimicrobianos utilizados em Medicina Dentária, tais como, os péptidos antimicrobianos, nanopartículas metálicas e extractos de planta (Khan et al., 2013).

- Nanopartículas de prata

A introdução de nanopartículas de prata no PMMA demonstrou ter propriedades antifúngicas em altas concentrações e propriedades antimicrobianas em baixas concentrações contra bactérias, vírus e microrganismos eucariotas sem efeitos adversos.

Tem a capacidade de reduzir a adesão de *Candida* e *Streptococcus mutans* ao PMMA (Gad et al., 2017; Sivakumar et al., 2014).

As nanopartículas de prata são de 1-100 nm que em baixas concentrações têm propriedades biológicas, físico-químicas adequadas que podem reduzir a adesão e colonização bacteriana do biofilme na prótese (Gad et al., 2017; Sivakumar et al., 2014).

Além destas propriedades não apresenta citotoxicidade, nem genotoxicidade, não tem efeitos na alteração da cor, reduz a hidrofobicidade, melhora a condutividade térmica e aumenta a resistência à flexão (Gad et al., 2017; Sivakumar et al., 2014).

A prata é um antimicrobiano com um largo espectro contra os agentes patogénicos e tem uma baixa toxicidade para o ser humano (Thomas et al., 2018).

O ião metálico de prata tem carga positiva, permite a atracção electrostática da membrana das células bacterianas provocando lise celular e inibe a replicação das células bacterianas através da desnaturação do DNA e do RNA (Sivakumar et al., 2014).

O desenvolvimento de nanopartículas de prata (AgNPs) através de métodos físico, químicos e biológicos tem mostrado ser uma solução promissora na área dos antimicrobianos (Thomas et al., 2018).

As nanopartículas metálicas demonstram propriedades antimicrobianas, especialmente contra bactérias Gram-positivo e Gram-negativo (Khan et al., 2013).

As nanopartículas de prata mostraram ser mais eficazes que a clorhexidina na diminuição da carga bacteriana do meio oral (Khan et al., 2013).

- Bio-nanopartículas de prata

Estas nanopartículas podem ser associadas a biomoléculas como, bactérias, péptidos, extractos de planta, hidratos de carbono e proteínas e, formar bio-nanopartículas que têm menos efeitos tóxicos. Estas bio-nanopartículas interferem na capacidade do *Streptococcus mutans* para a formação do biofilme (Thomas et al., 2018).

As MAgNPs sintetizadas a partir de *B.amyloliquefaciens* SJ14 em comparação com as CAgNPs, sintetizadas a partir do extracto de *C. aromática*, mostraram ser mais eficazes na inibição e eliminação do *Streptococcus mutans* e consequente eliminação do biofilme presente no PMMA (Thomas et al., 2018).

- Nanopartículas de óxido de zinco e óxido de cobre

As nanopartículas de óxido de zinco e de óxido de cobre mostraram ter propriedades antimicrobianas de um modo geral nas bactérias do meio oral, já as nanopartículas de prata, ouro e bismuto mostraram ser mais eficazes no combate a *Streptococcus mutans* no processo da cárie (Khan et al., 2013).

- Nanopartículas de quitosano

A quitina é a componente estrutural das conchas de artrópodes e de crustáceos. É a partir desta que conseguimos obter o quitosano que, por sua vez, é muito utilizado em aplicações biomédicas devido a sua biocompatibilidade, baixa toxicidade, biodegradabilidade e actividade antimicrobiana (Gondim et al., 2018).

Através de métodos de congelamento iónico de polianióes, como o trifosfato de sódio é possível formar nanopartículas de quitosano com propriedades antifúngicas contra *Candida albicans* e contra o biofilme formado na resina acrílica da prótese (Gondim et al., 2018).

O quitosano apresenta uma actividade antimicrobiana contra vários microrganismos, actividade antifúngica, desorganiza o biofilme já formado e promove a degradação da matriz polimérica do biofilme. Além de reduzir e inibir a formação de *Candida albicans* é capaz de alterar a morfologia de *Candida* para uma forma menos virulenta a que se designa blastoconidia (Gondim et al., 2018; Ohshima, Ikawa, Kitano, & Maeda, 2018).

Em comparação com o hipoclorito de sódio, as nanopartículas de quitosano apresentaram uma menor redução de *Candida* mas mostraram menos alterações nos valores da rugosidade e da microdureza, parâmetros que nos fornecem informações sobre degradação da superfície da resina acrílica (Gondim et al., 2018).

As nanopartículas de quitosano em comparação com o hipoclorito, que é o desinfectante mais utilizado, mostraram ser uma boa opção de desinfectante de próteses. Isto prende-se com a acção anti-*Candida* e com alterações mínimas das propriedades da resina acrílica (Gondim et al., 2018).

– Sal de amónio quaternário de quitosano

A resina acrílica quando incorpora agentes antimicrobianos passa a apresentar propriedades anti-biofilme fundamentais para o portador de prótese (Song, Zhong, & Lin, 2016).

O sal de amónio quaternário de quitosano apresenta propriedades antioxidantes e antibacterianas, solubilidade em água e não apresenta citotoxicidade (Song et al., 2016).

Estudos *in vitro* reportaram que a incorporação de quitosano na resina acrílica não altera a força de tensão, apresenta alguma corrosão e tem propriedades antibacterianas, nomeadamente anti-*S.mutans* e antifúngicas (Song et al., 2016).

- Nanopartículas de cerâmica e óxidos

O reforço híbrido do PMMA nomeadamente, com nanopartículas de cerâmica e óxidos metálicos demonstram propriedades antimicrobianas sem efeitos de citotoxicidade e, além disso melhoram o módulo de flexão, a rugosidade de superfície, a rigidez, a radiopacidade, a contracção e a condutividade térmica (Gad et al., 2017).

- Nanopartículas de níquel

O níquel é uma liga metálica bastante utilizada em aplicações ortodônticas e em prótese dentária (Khan et al., 2013).

As nanopartículas de níquel (NiNP), de óxido de níquel (NiONP) e de NiCl₂ apresentam propriedades antimicrobianas capazes de diminuir a carga bacteriana da cavidade oral (Khan et al., 2013).

As nanopartículas de NiCl₂ mostraram ser mais eficazes no controlo da carga bacteriana que as NiNP e NiONP. Em relação à formação do biofilme na superfície da prótese, inibição da produção da matriz do biofilme e à produção de ácidos a partir da glucose as nanopartículas de níquel (NiNP e NiCl₂) foram mais eficazes que as nanopartículas de óxido de níquel (NiONP) (Khan et al., 2013).

Em relação a toxicidade sabemos que as ligas metálicas como o níquel podem libertar iões capazes de desencadear alergia de contacto e sensibilização. No entanto, os óxidos dos iões metálicos mostram baixa toxicidade e não induzem alergias (Khan et al., 2013).

Assim, concluímos que o uso de nanopartículas de iões metálicos de níquel pode ser usado como um agente antimicrobiano alternativo (Khan et al., 2013).

- Nanopartículas de platina

A introdução de nanopartículas de platina tem também um efeito antibacteriano, mas também melhora as propriedades mecânicas relacionadas com a deflexão (Gad et al., 2017).

- Nanopartículas de dióxido de titânio

As nanopartículas de dióxido de titânio (TiO₂NPs) apresentam propriedades antimicrobianas através de fotocatalise. Na presença de radiação UV, água ou ar, tem um grande poder oxidativo e é capaz de decompor matéria orgânica e bactérias como, *C.albicans*, *E.coli* e *S.mutans* (Sivakumar et al., 2014).

A adição de 5% de TiO₂NPs ao PMMA mostrou ter actividade antifúngica contra a *C.albicans* e antibacteriana contra *S.aureus*. Contudo, não mostrou alteração ao nível da resistência à flexão e apresentou alguma citotoxicidade (Sivakumar et al., 2014).

- Introdução de vidros de flúor

A introdução de vidros à base de flúor mostrou ter propriedade antimicrobiana porque diminuem a adesão de microrganismos, mas, por outro lado, aumentam ligeiramente a rugosidade de superfície da base protética (Gad et al., 2017).

5.4. Extractos de planta

De modo a gerir e controlar as infecções fúngicas, têm sido feitos estudos que relacionem os produtos naturais, como os extractos de plantas, e as suas propriedades antifúngicas. Estas investigações são extremamente necessárias em infecções fúngicas recorrentes, como é o caso da estomatite protética (Machado-gonçalves et al., 2018).

A utilização de péptidos antimicrobianos provenientes de plantas e animais também foi sugerida dado que, estes apresentam uma actividade antifúngica, estimulam o sistema imunitário e não apresentam qualquer toxicidade (Ohshima et al., 2018).

Tendo em conta, que estas ervas medicinais com propriedades antimicrobianas podem ter efeitos desejáveis na prevenção e eliminação de *Candida*, torna-se importante identificar estas espécies para que possam ser utilizadas como possíveis métodos de manutenção da saúde oral (Ligia et al., 2017).

- Naringenina

A naringenina é um extracto de planta proveniente de plantas cítricas como a laranja e a uva. Este componente é conhecido pelas suas propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes e anticancerígenas. Tem baixa toxicidade, inibe a formação do biofilme interferindo nas bactérias Gram-positivo e Gram-negativo, é especialmente eficaz na destruição das bactérias *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (Yue et al., 2018).

Um estudo provou que a naringenina pode ser utilizada no combate à cárie visto que previne o biofilme com *Streptococcus mutans*. Interfere no segundo e terceiro estágio do biofilme e por ser eficaz e biocompatível pode ser inserida nos materiais dentários, como a resina acrílica e prevenir o desenvolvimento de lesões cariosas e maturação do biofilme (Yue et al., 2018).

- Extracto de *Terminalia catappa* Linn (TCE)

Na procura de soluções para eliminar o biofilme associado a *Candida*, surgiram os produtos naturais, entre eles, o extrato de *Terminalia catappa* Linn. (TCE), conhecido pelas suas propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes, protectoras hepáticas, antivirais e antimicrobianas (Machado-Gonçalves et al., 2018).

A análise química do TCE revelou a presença de ácido gálico, taninas hidrolisáveis e fenóis glicosilados, como os glicosídeos C-flavonóides. As taninas estão relacionadas com actividades antimicrobianas e o ácido gálico e os fenóis estão relacionados com propriedades antifúngicas. Já os glicosídeos C-flavonóides e os ácidos fenóis mostraram actividade anti-*Candida* (Machado-Gonçalves et al., 2018).

O extracto de TCE mostrou ter propriedades antifúngicas quando usado numa imersão pois, contribui para a diminuição do desenvolvimento de biofilmes de *C. albicans* na superfície de resinas acrílicas (Machado-Gonçalves et al., 2018).

- Extracto de *Equisetum giganteum* L.

O extracto bruto da planta (70% de EtOH) da *Equisetum giganteum* L. mostrou ter propriedades antimicrobianas contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *C. albicans*, acção anti-inflamatória, inibe a adesão de *Candida* a superfície das resinas acrílicas sem ter efeitos negativos ao nível dos monócitos e células epiteliais do palato (Ligia et al., 2017).

Estas propriedades podem ser explicadas pelo facto de esta erva apresentar na sua constituição 70% de flavonóides que interferem nas proteínas responsáveis pela adesão de *Candida* (Ligia et al., 2017).

- Extracto de *Punica granatum* L.

Já o extracto bruto de *Punica granatum* L. mostrou ter propriedades que inibem a adesão microbiana, nomeadamente a adesão de *Candida* aos biofilmes, visto que, este extracto apresenta taninas que actuam ao nível da parede celular destes microrganismos (Ligia et al., 2017).

- Extracto de *Ricinus communis*

A solução de *Ricinus communis* provém do óleo de ricínio e é bastante usado na área da saúde porque apresenta propriedades biocompatíveis, fungicidas, bactericidas, actividade anti-inflamatória, acção detergente e eficácia na eliminação da estomatite protética (Arruda et al., 2018).

A solução de *Ricinus communis* a 2% tem efeitos adversos e diminui a rugosidade de superfície, mas não tem efeitos significativos ao nível dos dentes artificiais, resina acrílica e resina resiliente (Arruda et al., 2018).

A solução de *Ricinus communis* a 8% mostrou ter uma eficácia intermédia na remoção do biofilme, já a 10% demonstrou uma acção antibacteriana que pode ser comparada ao hipoclorito de sódio. Se for comparada com a solução de peróxido alcalino a 2%, mostra efeitos muito semelhantes no combate ao biofilme (Arruda et al., 2018).

A solução de *Ricinus communis* a 8%, bem como, a 2% mostrou alterações na cor, mas estas não foram significativas. A rugosidade de superfície e a resistência à flexão apesar de diminuírem têm valores aceitáveis que previnem a acumulação do biofilme. A 3,3% foi capaz de diminuir os sinais clínicos da estomatite protética (Arruda et al., 2018).

Desta forma pode ser considerada uma alternativa ao hipoclorito visto que tem propriedades anti-biofilme, é bactericida e fungicida, é eficaz no controlo da estomatite, não apresenta um odor tao intenso, é biocompatível e não apresenta citotoxicidade (Arruda et al., 2018).

5.5. Alteração da superfície do PMMA

A superfície do esmalte é uma estrutura aniónica que através de força electrostáticas permite a adsorção de antimicrobianos salivares, histatina, estaterina e defensas e, por isso, é capaz de formar uma fina camada de saliva capaz de defender os dentes dos agentes patogénicos (Raj & Dentino, 2013).

Por outro lado, a superfície da prótese não é iónica devido a ausência de iões fosfato, o que limita a adesão de antimicrobianos salivares catiónicos e desencadeia uma maior colonização bacteriana e formação do biofilme (Raj & Dentino, 2013).

Tendo em conta esta situação, é possível modificar os polímeros de PMMA e transformar o polímero em aniónico através da introdução de aniões de carboxilato, ácido metacrílico e aniões fosfato (Raj & Dentino, 2013).

- Aniões de carboxilato

Os aniões de carboxilato a 10% no PMMA permitem uma melhor adsorção de histatina salivar mostrando boas propriedades antimicrobianas e uma diminuição da adesão de *Candida* devido a ruptura da sua membrana sem afectar a biocompatibilidade e as propriedades físicas do polímero (Raj & Dentino, 2013).

- Ácido metacrílico

Se adicionarmos ácido metacrílico a 16% no PMMA, este reduz a adesão de *Candida* através da introdução desta carga e cada vez que aumentamos a sua concentração, diminui a susceptibilidade para a adesão de *Candida* (Raj & Dentino, 2013).

Se os monómeros de ácido metacrílico a 10% forem incorporados no MMA, dão uma carga negativa à base protética e diminuem a adesão de *C.albicans* à resina acrílica. No entanto, demonstra efeitos negativos nas propriedades da resina acrílica, nomeadamente, nas propriedades mecânicas (Sivakumar et al., 2014).

- Aniões fosfato

A introdução de monómeros em forma de iões fosfato com carga negativa mostraram ser eficazes na diminuição da colonização bacteriana e na inibição da adesão de *Candida* pelo facto de permitirem a adsorção de antimicrobianos/proteínas salivares, nomeadamente histatinas, à resina acrílica (Raj & Dentino, 2013; Sivakumar et al., 2014).

Esta modificação não influenciou a resistência à flexão, a resistência à fractura e a absorção de água, mas são necessários mais estudos para avaliar a rigidez, rugosidade, a concentração de monómero residual e a biocompatibilidade (Raj & Dentino, 2013).

Numa percentagem de 15% mostraram ter efeitos negativos ao nível da hidrofilicidade, no entanto, a 10% mostraram ter as mesmas propriedades de força de flexão, resistência à fractura e absorção de água que uma resina não modificada (Sivakumar et al., 2014).

5.6. Enzimas

As peroxidases têm origem nas glândulas salivares (sialoperoxidases) e nos neutrófilos (mieloperoxidases) e são conhecidas pelas suas propriedades antimicrobianas (Sebaa et al., 2018).

Estas enzimas e ainda outra chamada lactoperoxidase, na presença de peróxido de hidrogénio, convertem o tiocianato salivar em hipotiocianato inibindo fungos como *Candida* e bactérias como *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophilus* e anaeróbios pigmentados de preto (Sebaa et al., 2018).

O complexo de iodina-tiocianato mostrou ser menos tóxico para as células epiteliais do que a clorohexidina e além disso mostrou ser um desinfectante eficaz no combate ao biofilme da prótese associado a *C. albicans* e *C. glabrata* (Sebaa et al., 2018).

Este complexo tem propriedades antimicrobianas, é capaz de esterilizar a superfície da prótese, é fácil de usar, é fácil de manipular, pode ser usado em casa e por isso, pode ser considerado uma alternativa em relação aos antifúngicos utilizados (Sebaa et al., 2018).

5.7. Introdução de polímeros no PMMA

A introdução de polímeros antimicrobianos na prótese tem sido bastante estudada no intuito de desenvolver uma base protética com propriedades antimicrobianas (Sivakumar et al., 2014).

As macromoléculas antimicrobianas (polímeros) podem ser classificadas em três categorias: revestimento da superfície com biocidas, polímeros libertadores de biocidas e biocidas poliméricos (Sivakumar et al., 2014).

A introdução de biocidas poliméricos ou de polímeros libertadores de biocidas no PMMA das bases protéticas mostrou ter propriedades antimicrobianas, mas, por outro lado, apresentou efeitos tóxicos (Ohshima et al., 2018).

O revestimento polimérico da superfície pode tornar a superfície do PMMA hidrofílica através da introdução de certos componentes (Sivakumar et al., 2014).

- **Revestimento de superfícies com biocidas**

O revestimento da superfície com biocidas é feito através da modificação da superfície do PMMA, que passa de uma superfície hidrofóbica para uma superfície hidrofílica introduzindo polimetilsiloxano, manana, sílica dióxido de titânio que influenciam as propriedades físicas e mecânicas da resina acrílica (Sivakumar et al., 2014).

- Polidimetil siloxano

O polidimetil siloxano é um polímero auto-adesivo que altera a superfície da resina acrílica através da criação de uma camada mono-molecular inerte e quimicamente estável (Sivakumar et al., 2014).

- Manana

A parede celular de *Candida* está revestida por uma camada de polissacáridos hidrofílicos como o manana ou o galactomanana. O manana tem a função de adesina na superfície dos fungos, está envolvido na adesão ao hospedeiro e, além disso, tem propriedades de antigénio que são eficazes na prevenção de patologias sistêmicas e locais, como a estomatite protética (Ohshima et al., 2018).

O revestimento das superfícies de resina acrílica com manana mostrou ser eficaz na inibição da adesão de *C. albicans* e *C. glabrata* e também na prevenção do aparecimento da estomatite protética (Ohshima et al., 2018).

- Sílica

Se for usada sílica, esta é capaz de alterar superfície do PMMA através do seu grupo hidroxilo (Si-OH) que reveste a superfície da resina acrílico (Sivakumar et al., 2014).

- Dióxido de titânio (TiO₂)

O TiO₂ se for adicionado é capaz de tornar a superfície hidrofílica e inibe a adesão de *Candida albicans* e *Streptococcus sanguinis* ao PMMA (Sivakumar et al., 2014).

- **Polímeros libertadores de biocidas**

Os polímeros libertadores de biocidas podem ser nanopartículas de prata e de dióxido de titânio, já explicadas acima, PNVP, PHEMA, PMMA, fluoreto de sódio e zeólitos de prata que funcionam como transportadores de biocidas e conseguem libertá-los a altas concentrações (Sivakumar et al., 2014).

- PNVP, PHEMA e PMAA

Um estudo testou a introdução de PNVP (poli 1-vinil-2-pirrolidinona) PHEMA (poli 2-hidroxietil metacrilato) ou PMAA (ácido polimetacrílico) numa resina acrílica convencional de PMMA (polimetilmetacrilato). Estes três polímeros biocompatíveis são muito usados em situações de libertação de fármacos (Wen, Jiang, Yeh, & Sun, 2016).

Desta forma, o miconazol, agente antifúngico, foi inserido nestes polímeros e demonstraram ter uma ligação muito superior a este fármaco do que a resina convencional (Wen et al., 2016).

Todos se mostraram eficazes na libertação do fármaco, na sua ligação ao miconazol e no controle do biofilme e de *C. albicans*, no entanto, o PNVP mostrou ter os melhores resultados e por isso, pode ser considerado um potente antifúngico (Wen et al., 2016).

- Fluoreto de sódio (NaF)

A fim de reduzir a formação do biofilme também foram criados copolímeros que são capazes de libertar flúor, interferir nas interações celulares e inibir as bactérias acidogénicas do biofilme (Yassin, German, Rolland, Rickard, & Jakubovics, 2016).

Para isso criaram um copolímero em que 30% do PMMA foi substituído por NaF, por este apresentar estabilidade numa grande variedade de pH e 40% do MMA foi substituído por HEMA que facilita a libertação do flúor (Yassin et al., 2016).

– Zeólitos de prata

Os zeólitos de prata são estruturas cristalinas de silicato de alumínio com poros que contêm iões de prata ou zinco. Estes, por sua vez, inibem as enzimas do crescimento bacteriano e interrompem a replicação do RNA. Apresenta propriedades antibacterianas de longa duração (Sivakumar et al., 2014).

A adição de zeólitos de prata a 2,5%, 5%, 7,5% e 10% no PMMA mostrou ter efeitos antimicrobianos contra *S.mutans* e *C.albicans* no entanto, foram verificadas alterações na rigidez e resistência à flexão da resina acrílica. Devem ser introduzidas concentrações menores a fim de reduzir os efeitos adversos (Sivakumar et al., 2014).

- **Biocidas poliméricos**

Os biocidas poliméricos são unidades repetidas de biocidas que são incorporadas no polímero PMMA através de mecanismos de copolimerização ou modificação da superfície (Sivakumar et al., 2014).

Dentro dos biocidas poliméricos estão enquadrados os monómeros de ácido metacrílico, aniões fosfato e carboxilato, já explicados acima, DMADDM (dimetilaminododecil metacrilato) 2-tert-butilaminoetil metacrilato (TBAEMA) e brometo de 12-metacrililoiloxido dodecilmiridínio (MDPB) e brometo de metacrililoiloxido undecilmiridínio (MUPB) (Sivakumar et al., 2014).

– DMADDM

Num estudo tentaram introduzir DMADDM numa resina acrílica fotopolimerizada visto que, é um novo tipo de sal de amónio quaternário que apresenta um mecanismo antimicrobiano capaz de desencadear a ruptura da membrana das bactérias (Zhang et al., 2016).

A introdução de DMADDM na prótese mostrou ser benéfica visto que se trata de um componente seguro e biocompatível capaz de inibir o biofilme bacteriano e fúngico, nomeadamente o crescimento de *C. albicans* (Zhang et al., 2016).

– TBAEMA

TBAEMA é um monómero monofuncional que quando incorporado no MMA apresenta um efeito biocida através dos seus grupos amina e actua na membrana da célula bacteriana provocando lise celular. Tem actvidade antimicrobiana contra *S.mutans* e *S.aureus* mas não tem efeito em *C.albicans*. e mostra uma diminuição na resistência à flexão em concentrações maiores que 1,75% (Sivakumar et al., 2014).

– MDPB

MDPB é um bactericida polimerizável actualmente usado em *primers*, adesivo e resinas compostas. O seu componente antibacteriano liga-se covalentemente ao polímero por copolimerização e é capaz de inibir o desenvolvimento de *C.albicans* e de *S.mutans*. Não apresenta alterações das propriedades da resina acrílica (Sivakumar et al., 2014).

– MUBP

Outro composto copolimerizável é o MUPB que é conhecido por inibir o crescimento de *C. albicans*, *E. coli*, *P. aruginosa*, *S. aureus*, *C. dubliniensis*, *C. glabrata*, *Lactobacillus casei*, *Staphylococcus aureus* e *S. mutans*, contudo, apresenta alta citotoxicidade mesmo em concentrações baixas, mas a dureza e a rugosidade da superfície não se alteram (Sivakumar et al., 2014).

5.8. Adesivos da prótese

Por vezes, os portadores de prótese precisam de recorrer a materiais adesivos, comercialmente conhecidos como COREGA ou KUKIDENT que são utilizados na base protética para melhorar a qualidade de mastigação, o conforto do paciente, a retenção na mucosa, a distribuição das forças oclusais, a pressão nos tecidos da mucosa e, por isso diminuem a irritação da mucosa e o trauma tecidular. Todos estes factores estão relacionados com um menor risco para o aparecimento de estomatite protética (Ligia et al., 2017).

Os materiais adesivos usados na prótese podem incorporar componentes antimicrobianos como, etanol, borato de sódio, hexaclorofeno e tetraborato de sódio, mas também podem ser utilizadas ervas medicinais como uma alternativa eficaz no controlo de *Candida* na prótese (Ligia et al., 2017).

A COREGA apresenta um componente antifúngico chamado glicol polietileno (PEG) que reduz a adesão e crescimento de *Candida* nos biofilmes associados à resina acrílica da prótese (Ligia et al., 2017).

Os extractos de planta de *Punica granatum L.* e *Equisetum giganteum L.* combinados com um material adesivo mostraram ser eficazes na diminuição da actividade metabólica, colonização, morfologia e densidade de *C. albicans* nos biofilmes associados à prótese (Ligia et al., 2017).

Por este motivo, esta combinação material adesivo (COREGA)/extracto de planta deve ser utilizada como método de prevenção da estomatite protética, já que ampliou a sua capacidade antifúngica e interferiu no biofilme de *Candida* que adere à superfície das bases protéticas (Ligia et al., 2017).

Desta forma, compreende-se que as próteses devem ser higienizadas diariamente e de maneira eficaz com intuito de remover o biofilme presente nas suas superfícies e permitir a manutenção de uma boa saúde oral (Felton et al., 2011).

Segundo as *guidelines* da *American College of Prosthodontics*, a higiene da prótese deve ser feita diariamente através da imersão e da escovagem com um “*cleanser*” eficaz e não abrasivo (Gondim et al., 2018).

Deste modo, a higiene oral eficaz contribui para o controlo das doenças orais e sistémicas associadas ao biofilme da placa da prótese (Shuman, 2018).

É importante sublinhar que a solução desinfectante ideal deve ser eficaz na eliminação dos microrganismos patogénicos sem alterar as propriedades físico químicas do material protético (Valentini-Mioso et al., 2018).

A higiene com um desinfectante químico é muito mais fácil e eficaz do que uma higiene mecânica porque normalmente os portadores de prótese apresentam uma capacidade motora debilitada (Gondim et al., 2018).

III. Conclusão

Com esta revisão bibliográfica é possível concluir que a acumulação do biofilme na prótese tem uma grande influência na saúde oral e sistémica dos indivíduos que recorrem a este tratamento para solucionar a sua ausência de dentes.

O microbioma oral apresenta uma comunidade microbiana muito diversificada com a presença de microrganismos comensais e patogénicos que partilham de um equilíbrio dinâmico em simbiose.

Existem diferentes factores como a dieta, stress, consumo de tabaco, álcool e drogas, fármacos e a própria susceptibilidade do hospedeiro que são capazes de alterar o equilíbrio do microbioma e instalar um estado de disbiose, onde várias patologias são passíveis de se desenvolver.

O biofilme é considerado uma estrutura de microrganismos muito complexa, principalmente se acrescentarmos a presença de prótese, e, para que se possam entender as suas interacções é necessário que se continuem a elaborar investigações a fim de identificar as bactérias, fungos e protozoários presentes, bem como, os seus mecanismos de acção e o seu papel na virulência do biofilme.

Além de colonizar as estruturas moles e duras da cavidade oral, o biofilme tem a capacidade de colonizar os biomateriais dentários, e, se se mantiver sem ser removido, desenvolve-se e transforma-se em biofilme patogénico que pode desencadear patologias como a cárie, a doença periodontal, a estomatite protética, entre outras.

As propriedades dos biomateriais dentários influenciam a colonização do biofilme. Nas resinas acrílicas, que é dos materiais mais utilizados no fabrico de próteses, a rugosidade de superfície é uma das propriedades mais importantes visto que, à medida que aumenta, existem mais microporosidades que permitem a adesão e proliferação microbiana.

Assim, com o intuito de diminuir a adesão e formação do biofilme na prótese foram criadas estratégias de controlo e eliminação do mesmo. Foi possível compreender que existem estratégias que utilizam diferentes mecanismos, tais como, o uso de soluções antimicrobianas, a introdução de nanopartículas, extractos de plantas, óleos essenciais, enzimas, biocidas poliméricos, polímeros libertadores de biocidas e revestimento de

superfícies com biocidas, que visam eliminar e/ou controlar o desenvolvimento do biofilme na prótese.

Estas estratégias são apenas uma rampa de lançamento para as próximas investigações, visto que, apesar de existirem várias técnicas de higiene para a manutenção da prótese é necessário continuar a procurar agentes desinfectantes eficazes, biocompatíveis e que não influenciem as propriedades físicas e mecânicas das resinas acrílicas.

Para concluir é de frisar o papel do Médico Dentista na promoção da saúde oral, incentivar a *compliance* do doente e motivar os portadores de prótese para a higiene para que estes possam assegurar a manutenção e viabilidade da sua prótese.

IV. Bibliografia

- Al-Bakri, I. A., Harty, D., Al-Omari, W. M., Swain, M. V., Chrzanowski, W., & Ellakwa, A. (2014). Surface characteristics and microbial adherence ability of modified polymethylmethacrylate by fluoridated glass fillers. *Australian Dental Journal*, 59(4), 482–489. <https://doi.org/10.1111/adj.12218>
- Andrade, I., & Macedo, A. P. (2017). Antimicrobial action and long-term effect of overnight denture cleansers, (July 2018).
- Arruda, C. N. F., Salles, M. M., Badaró, M. M., Sorgini, D. B., Oliveira, V. C., Macedo, A. P., ... Paranhos, H. F. O. (2018). Evaluation of biofilm removal and adverse effects on acrylic resin by diluted concentrations of sodium hypochlorite and *Ricinus communis* solutions. *Gerodontology*, (April), 1–8. <https://doi.org/10.1111/ger.12348>
- Aslanimehr, M., Rezvani, S., Mahmoudi, A., & Moosavi, N. (2017). Comparison of *Candida Albicans* Adherence to Conventional Acrylic Denture Base Materials and Injection Molding Acrylic Materials, 18(1), 61–64.
- Avila, M., Ojcius, D. M., & Yilmaz, Ö. (2009). The Oral Microbiota: Living with a Permanent Guest. *DNA and Cell Biology*, 28(8), 405–411. <https://doi.org/10.1089/dna.2009.0874>
- Basker, R.;Davenport,J.;Thomason, J. (2011). *Prosthetic Treatment of the Edentulous Patient*. (W.- Blackwell, Ed.) (5th edition).
- Bowen, W. H., Burne, R. A., Wu, H., & Koo, H. (2017). Oral Bio fi lms : Pathogens , Matrix , and Polymicrobial Interactions in Microenvironments. *Trends in Microbiology*, xx, 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2017.09.008>
- Busscher, H. J., Rinastiti, M., Siswomihardjo, W., & Van Der Mei, H. C. (2010). Biofilm formation on dental restorative and implant materials. *Journal of Dental Research*, 89(7), 657–665. <https://doi.org/10.1177/0022034510368644>
- Campbell, S. D., Cooper, L., Craddock, H., Hyde, T. P., Nattress, B., Pavitt, S. H., & Seymour, D. W. (2017). Removable partial dentures: The clinical need for innovation. *Journal of Prosthetic Dentistry*, 118(3), 273–280. <https://doi.org/10.1016/j.prosdent.2017.01.008>

- Campos, M. S., Marchini, L., Bernardes, L. A. S., Paulino, L. C., & Nobrega, F. G. (2008). Biofilm microbial communities of denture stomatitis. *Oral Microbiology and Immunology*, 23(5), 419–424. <https://doi.org/10.1111/j.1399-302X.2008.00445.x>
- Cano-Gutiérrez, C., Borda, M. G., Arciniegas, A. J., & Borda, C. X. (2015). Edentulism and dental prostheses in the elderly: impact on quality of life measured with EuroQol--visual analog scale (EQ-VAS). *Acta Odontologica Latinoamericana : AOL*, 28(2), 149–155. <https://doi.org/10.1590/S1852-48342015000200009>
- Carr, A.; Brown, D. (2016). *McCracken's Removable Partial Prosthodontics*. (Elsevier, Ed.) (13th editi).
- Cierech, M., Kolenda, A., Grudniak, A. M., Wojnarowicz, J., Woźniak, B., Gołaś, M., ... Mierzwinska-Nastalska, E. (2016). Significance of polymethylmethacrylate (PMMA) modification by zinc oxide nanoparticles for fungal biofilm formation. *International Journal of Pharmaceutics*, 510(1), 323–335. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.06.052>
- Costerton, J. W., Geesey, G. G., & Cheng, K. J. (1978). How bacteria stick. *Scientific American*, 238(1), 86–95. <https://doi.org/10.1038/scientificamerican0178-86>
- Coulthwaite, L., & Verran, J. (2007). Potential pathogenic aspects of denture plaque. *British Journal of Biomedical Science*, 64(4), 180–189. <https://doi.org/10.1080/09674845.2007.11732784>
- Devine, D. A., Marsh, P. D., & Meade, J. (2015). Modulation of host responses by oral commensal bacteria. *Journal of Oral Microbiology*, 7(1), 1–4. <https://doi.org/10.3402/jom.v7.26941>
- Donnell, L. E. O., Robertson, D., Nile, C. J., Cross, L. J., Riggio, M., Sherriff, A., ... Brandt, B. W. (2015). The Oral Microbiome of Denture Wearers Is Influenced by Levels of Natural Dentition, 1–22. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0137717>
- Douglass, C. W., Shih, A., & Ostry, L. (2002). Will there be a need for complete dentures in the United States in 2020? *Journal of Prosthetic Dentistry*, 87(1), 5–8. <https://doi.org/10.1067/mpr.2002.121203>
- Driscoll, C. F., Freilich, M. A., Guckes, A. D., Knoernschild, K. L., McGarry, T. J., Goldstein, G., ... Vanblarcom, C. (2017). The Glossary of Prosthodontic Terms. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 117(5), C1-e105.

<https://doi.org/10.1016/j.prosdent.2016.12.001>

Duyck, J., Vandamme, K., Muller, P., & Teughels, W. (2013). Overnight storage of removable dentures in alkaline peroxide-based tablets affects biofilm mass and composition. *Journal of Dentistry*, 41(12), 1281–1289. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2013.08.002>

Ebrahimi Saravi, M., Vojdani, M., & Bahrani, F. (2012). Evaluation of cellular toxicity of three denture base acrylic resins. *Journal of Dentistry (Tehran, Iran)*, 9(4), 180–188. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3536452&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

Felton, D., Cooper, L., Duqum, I., Minsley, G., Guckes, A., Haug, S., ... Chandler, N. D. (2011). Evidence-based guidelines for the care and maintenance of complete dentures: A publication of the American College of Prosthodontists. *Journal of the American Dental Association*, 142, 1S–20S. <https://doi.org/10.14219/jada.archive.2011.0067>

Flemming, H. C., Wingender, J., Szewzyk, U., Steinberg, P., Rice, S. A., & Kjelleberg, S. (2016). Biofilms: An emergent form of bacterial life. *Nature Reviews Microbiology*, 14(9), 563–575. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.94>

Francolini, I., & Donelli, G. (2010). Prevention and control of biofilm-based medical-device-related infections. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 59(3), 227–238. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2010.00665.x>

Gad, M. M., Fouda, S. M., Al-Harbi, F. A., Näpänkangas, R., & Raustia, A. (2017). PMMA denture base material enhancement: A review of fiber, filler, and nanofiller addition. *International Journal of Nanomedicine*, 12, 3801–3812. <https://doi.org/10.2147/IJN.S130722>

Gautam, R., Singh, R. D., Sharma, V. P., Siddhartha, R., Chand, P., & Kumar, R. (2012). Biocompatibility of polymethylmethacrylate resins used in dentistry. *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials*, 100 B(5), 1444–1450. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.32673>

Goiato, M. C., Freitas, E., Dos Santos, D., De Medeiros, R., & Sonogo, M. (2015). Acrylic resin cytotoxicity for denture base - Literature review. *Advances in Clinical and Experimental Medicine*, 24(4), 679–686. <https://doi.org/10.17219/acem/33009>

Gondim, B. L. C., Castellano, L. R. C., de Castro, R. D., Machado, G., Carlo, H. L., Valença, A. M. G., & de Carvalho, F. G. (2018). Effect of chitosan nanoparticles on the inhibition of *Candida* spp. biofilm on denture base surface. *Archives of Oral Biology*, 94(July), 99–107. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2018.07.004>

Gupta, A., Felton, D. A., Jemt, T., & Koka, S. (2018). Rehabilitation of Edentulism and Mortality: A Systematic Review. *Journal of Prosthodontics*. <https://doi.org/10.1111/jopr.12792>

HS Delgado, A. et al. (2018). In situ multispecie colonization of an acrylic resin: comparison to oral microbiome and portential for inflammatoty response. *Contemporary Clinical Dentistry*, 9(3). <https://doi.org/10.4103/ccd.ccd>

ISO 20795-1 - Denture Base Polymers (2013)

Jamal, M., Ahmad, W., Andleeb, S., Jalil, F., Imran, M., Nawaz, M. A., ... Kamil, M. A. (2018). Bacterial biofilm and associated infections. *Journal of the Chinese Medical Association*, 81(1), 7–11. <https://doi.org/10.1016/j.jcma.2017.07.012>

Jayaraman, S., Singh, B. P., Ramanathan, B., Pazhaniappan Pillai, M., Macdonald, L., & Kirubakaran, R. (2018). Final-impression techniques and materials for making complete and removable partial dentures. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2018(4). <https://doi.org/10.1002/14651858.CD012256.pub2>

Kedjarune, U., Charoenworluk, N., & Koontongkaew, S. (1999). Release of methyl methacrylate from heat-cured and autopolymerized resins: Cytotoxicity testing related to residual monomer. *Australian Dental Journal*, 44(1), 25–30. <https://doi.org/10.1111/j.1834-7819.1999.tb00532.x>

Khan, S. T., Ahamed, M., Alhadlaq, H. A., Musarrat, J., & Al-Khedhairi, A. (2013). Comparative effectiveness of NiCl₂, Ni- and NiO-NPs in controlling oral bacterial growth and biofilm formation on oral surfaces. *Archives of Oral Biology*, 58(12), 1804–1811. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2013.09.011>

Kilian, M., Chapple, I. L. C., Hannig, M., Marsh, P. D., Meuric, V., Pedersen, A. M. L., ... Zaura, E. (2016). The oral microbiome – an update for oral healthcare professionals, 657–666. <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2016.865>

Koch, C., Burgers, R., & Hahnel, S. (2013). *Candida albicans* adherence and proliferation on the surface of denture base materials. *Gerodontology*, 30(4), 309–313.

<https://doi.org/10.1111/ger.12056>

Kolenbrander, P. E., Palmer, R. J., Periasamy, S., & Jakubovics, N. S. (2010). Oral multispecies biofilm development and the key role of cell-cell distance. *Nature Reviews Microbiology*, 8(7), 471–480. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2381>

Le, B. T., Adams, J. R. J., Yu, M., Sykes, M. J., & Wang, S. (2015). Medicinal Chemistry, 7, 35–53. <https://doi.org/10.4155/fmc-2016-0197>

Lederberg, B. J., & McCray, A. T. (2001). ' Ome Sweet ' Omics-- A Genealogical Treasury of Words. *The Scientist*, 15(7), 8.

Ligia, N., Almeida, M., Saldanha, L. L., Alves, R., Pinke, K. H., Ferraz, E., ... Alves, R. (2017). Antimicrobial activity of denture adhesive associated with Equisetum giganteum- and Punica granatum-enriched fractions against Candida albicans biofilms on acrylic resin surfaces. *Biofouling*, 7014(December), 1–12. <https://doi.org/10.1080/08927014.2017.1407408>

Machado-gonçalves, L., Tavares-santos, A., Santos-costa, F., & Soares-diniz, R. (2018). Effects of Terminalia catappa Linn . Extract on Candida albicans biofilms developed on denture acrylic resin discs, 10(7). <https://doi.org/10.4317/jced.54776>

Mancl, K. A., Kirsner, R. S., & Ajdic, D. (2013). Wound biofilms: Lessons learned from oral biofilms. *Wound Repair and Regeneration*, 21(3), 352–362. <https://doi.org/10.1111/wrr.12034>

Marsh, Martin, L. & W. (2009). *Oral Microbiology*. (C. L. Elsevier, Ed.) (5th editio). Edinburgh London New York Oxford Philadelphia St Louis Sydney Toronto.

Marsh & Bradshaw. (1995). Dental plaque as a biofilm. *Journal of Industrial Microbiology*, 15(3), 169–175. <https://doi.org/10.1007/BF01569822>

Marsh, P. D. (2000). Role of the oral microflora in health. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 12(3), 130–137. <https://doi.org/10.1080/089106000750051800>

Marsh, P. D. (2004). Dental plaque as a microbial biofilm. *Caries Research*, 38(3), 204–211. <https://doi.org/10.1159/000077756>

Marsh, P. D., Head, D. A., & Devine, D. A. (2014). Prospects of oral disease control in the future -an opinion. *Journal of Oral Microbiology*, 6(1), 1–4. <https://doi.org/10.3402/jom.v6.26176>

- Marsh, P. D., Head, D. A., & Devine, D. A. (2015). Ecological approaches to oral biofilms: Control without killing. *Caries Research*, 49(suppl 1), 46–54. <https://doi.org/10.1159/000377732>
- Moldovan, O. (2018). Biological complications of removable dental prostheses in the moderately reduced dentition : a systematic literature review.
- Morse, D. J., Wilson, M. J., Wei, X., Lewis, M. A. O., Bradshaw, D. J., Murdoch, C., & Williams, D. W. (2018). Denture-associated biofilm infection in three-dimensional oral mucosal tissue models, 364–375. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.000677>
- Neppelenbroek, K. H. (2015). The importance of daily removal of the denture biofilm for oral and systemic diseases prevention. *Journal of Applied Oral Science : Revista FOB*, 23(6), 547–548. <https://doi.org/10.1590/1678-77572015ed006>
- Ohshima, T., Ikawa, S., Kitano, K., & Maeda, N. (2018). A proposal of remedies for oral diseases caused by Candida: A mini review. *Frontiers in Microbiology*, 9(JUL), 1–7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01522>
- Øilo, M., & Bakken, V. (2015). Biofilm and dental biomaterials. *Materials*, 8(6), 2887–2900. <https://doi.org/10.3390/ma8062887>
- Olms, C., Yahiaoui-doktor, M., Remmerbach, T. W., & Stingu, C. S. (2018). Bacterial Colonization and Tissue Compatibility of Denture Base Resins. *Dentistry Journal*. <https://doi.org/10.3390/dj6020020>
- Papadiochou, S., & Polyzois, G. (2018). Hygiene practices in removable prosthodontics: A systematic review. *International Journal of Dental Hygiene*, 16(2), 179–201. <https://doi.org/10.1111/idh.12323>
- Pegoraro, L.; Valle, A.; Araujo, C.; Bonfante, G. (2001). *Prótesis Fija - Luiz Fernando Pegoraro et al.pdf*. (A. Médicas, Ed.). São Paulo.
- Peracini, A., Regis, R. R., Souza, R. F. De, Pagnano, V. O., Silva, C. H. L. Da, & Paranhos, H. D. F. O. (2016). Alkaline peroxides versus sodium hypochlorite for removing denture biofilm: A crossover randomized trial. *Brazilian Dental Journal*, 27(6), 700–704. <https://doi.org/10.1590/0103-6440201600913>
- Raj, P. A., & Dentino, A. R. (2013). Denture polymers with antimicrobial properties: a review of the development and current status of anionic poly(methyl methacrylate) polymers. *Future Med Chem*, 5(14), 1635–1645. <https://doi.org/10.4155/fmc.13.145>

- Rawls, H; Shen, C.; Anusavice, K. (2013). *Phillips Materiais Dentários*. (Elsevier, Ed.) (12th edition). Retrieved from <http://www.microbecolhealthdis.net/index.php/mehd/article/view/18404>
- Rashid, H., Sheikh, Z., & Vohra, F. (2015). Allergic effects of the residual monomer used in denture base acrylic resins. *European Journal of Dentistry*, 9(4), 614–619. <https://doi.org/10.4103/1305-7456.172621>
- Rickman, L. J., Padipatvuthikul, P., & Satterthwaite, J. D. (2012). Contemporary denture base resins: part 2. *Dental Update*, 39(3), 176–187. <https://doi.org/10.12968/denu.2012.39.3.176>
- Sachdeo, A., Haffajee, A. D., & Socransky, S. S. (2008). Biofilms in the edentulous oral cavity. *Journal of Prosthodontics*, 17(5), 348–356. <https://doi.org/10.1111/j.1532-849X.2008.00301.x>
- Scully, C. (2013). *Oral and Maxillofacial Medicine: The Basis of Diagnosis and Treatment: Third Edition*. (C. Livingstone, Ed.), *Oral and Maxillofacial Medicine: The Basis of Diagnosis and Treatment: Third Edition* (13th editi). <https://doi.org/10.1016/C2011-0-04227-8>
- Sebaa, S., Faltot, M., De Breucker, S., Boucherit-Otmani, Z., Bafort, F., Perraudin, J.-P., & Courtois, P. (2018). Ex vivo decontamination of yeast-colonized dentures by iodine–thiocyanate complexes. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dentistry, Volume 10*, 149–158. <https://doi.org/10.2147/CCIDE.S165377>
- Shi, B., Wu, T., Mclean, J., Edlund, A., & Young, Y. (2016). The Denture-Associated Oral Microbiome, 1(6), 1–13. <https://doi.org/10.1128/mSphere.00215-16>.Editor
- Shuman, I. E. (2018). Keep It Clean ! The Hazards of Dirty Dentures and Oral Appliances Keep It Clean !, (May).
- Sivakumar, I., Arunachalam, K. S., Sajjan, S., Ramaraju, A. V., Rao, B., & Kamaraj, B. (2014). Incorporation of antimicrobial macromolecules in acrylic denture base resins: A research composition and update. *Journal of Prosthodontics*, 23(4), 284–290. <https://doi.org/10.1111/jopr.12105>
- Song, R., Zhong, Z., & Lin, L. (2016). Evaluation of chitosan quaternary ammonium salt-modified resin denture base material. *International Journal of Biological Macromolecules*, 85, 102–110. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.12.052>

Subramani, K., Jung, R. E., Molenberg, A., & Hammerle, C. H. F. (2009). Biofilm on dental implants: a review of the literature. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 24(4), 616–626. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2007.01341.x>

Susewind, S., Lang, R., & Hahnel, S. (2015). Biofilm formation and *Candida albicans* morphology on the surface of denture base materials. *Mycoses*, 58(12), 719–727. <https://doi.org/10.1111/myc.12420>

Sutula, J., Coulthwaite, L., Thomas, L., & Verran, J. (2012). The effect of a commercial probiotic drink on oral microbiota in healthy complete denture wearers. *Microbial Ecology in Health & Disease*, 23(0), 1–9. <https://doi.org/10.3402/mehd.v23i0.18404>

Technique, A. D. M. (1932). Living 277, 277–287.

Teles, F. R., Teles, R. P., Sachdeo, A., Uzel, N. G., Song, X. Q., Torresyap, G., ... Socransky, S. S. (2012). Comparison of Microbial Changes in Early Redeveloping Biofilms on Natural Teeth and Dentures. *Journal of Periodontology*, 83(9), 1139–1148. <https://doi.org/10.1902/jop.2012.110506>

Teughels, W., Assche, N., Sliepen, I., & Quirynen, M. (2006). Effect of Material Characteristics and/or Surface Topography on Biofilm Development. *Clinical Oral Implants Research*, 17 Suppl 2, 68–81. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2006.01353.x>

Thomas, R., Snigdha, S., Bhavitha, K. B., Babu, S., Ajith, A., & Radhakrishnan, E. K. (2018). Biofabricated silver nanoparticles incorporated polymethyl methacrylate as a dental adhesive material with antibacterial and antibiofilm activity against *Streptococcus mutans*. *3 Biotech*, 8(9), 404. <https://doi.org/10.1007/s13205-018-1420-y>

United Nations Population Fund (UNFPA), & and HelpAge International. (2012). *Ageing in the Twenty-First Century: A Celebration and A Challenge*. United Nations Population Fund (UNFPA), New York, and HelpAge International, London. <https://doi.org/978-0-89714-981-5>

Valentini-Mioso, F., Maske, T. T., Cenci, M. S., Boscato, N., & Pereira-Cenci, T. (2018). Chemical hygiene protocols for complete dentures: A crossover randomized clinical trial. *Journal of Prosthetic Dentistry*, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.prosdent.2017.12.022>

van 't Hof, W., Veerman, E. C. I., Nieuw Amerongen, A. V., & Ligtenberg, A. J. M.

- (2014). Antimicrobial defense systems in saliva. *Saliva: Secretion and Functions*, 24, 40–51. <https://doi.org/10.1159/000358783>
- Velmurugan, S., Gan, J. M., Rathod, K. S., Khambata, R. S., Ghosh, S. M., Hartley, A., ... Wade, W. G. (2016). Dietary nitrate improves vascular function in patients with hypercholesterolemia : a randomized , double-blind , placebo-controlled study. *Am J Clin Nutr*, 103(June), 25–38. <https://doi.org/10.3945/ajcn.115.116244.25>
- Vojdani, M., & Giti, R. (2015). Polyamide as a Denture Base Material: A Literature Review. *Journal of Dentistry (Shiraz, Iran)*, 16(1 Suppl), 1–9. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26106628> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC4476124>
- Wade, W. G. (2012). The oral microbiome in health and disease. *Pharmacological Research*. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2012.11.006>
- Wang, Z., Shen, Y., & Haapasalo, M. (2014). Dental materials with antibiofilm properties. *Dental Materials*, 30(2), 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2013.12.001>
- Xu, X., He, J., Xue, J., Wang, Y., Li, K., Zhang, K., ... Zhou, X. (2015). Oral cavity contains distinct niches with dynamic microbial communities. *Environmental Microbiology*, 17(3), 699–710. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12502>
- Yassin, S. A., German, M. J., Rolland, S. L., Rickard, A. H., & Jakubovics, N. S. (2016). Inhibition of multispecies biofilms by a fluoride-releasing dental prosthesis copolymer. *Journal of Dentistry*, 48, 62–70. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2016.03.001>
- ue, J., Yang, H., Liu, S., Song, F., Guo, J., & Huang, C. (2018). Influence of naringenin on the biofilm formation of Streptococcus mutans. *Journal of Dentistry*, 76, 24–31. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2018.04.013>
- Zhang, K., Ren, B., Zhou, X., Xu, H. H. K., Chen, Y., Han, Q., ... Cheng, L. (2016). Effect of antimicrobial denture base resin on multi-species biofilm formation. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(7), 1–13. <https://doi.org/10.3390/ijms17071033>
- Zoccolotti, J. de O., Tasso, C. O., Arbeláez, M. I. A., Malavolta, I. F., Pereira, E. C. da S., Esteves, C. S. G., & Jorge, J. H. (2018). Properties of an acrylic resin after immersion in antiseptic soaps: Low-cost, easy-access procedure for the prevention of denture stomatitis. *Plos One*, 13(8), e0203187. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0203187>

